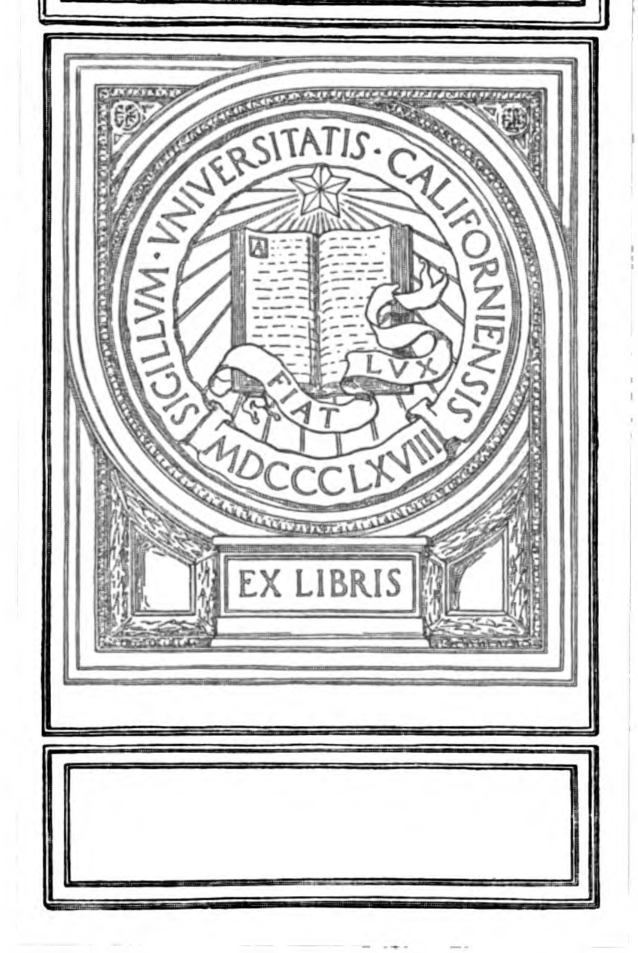




UNIVERSITY OF CALIFORNIA
SAN FRANCISCO MEDICAL CENTER
LIBRARY
SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS



ZEITSCHRIFT

FÜR

HYGIENE

UND

INFECTIONSKRANKHEITEN.

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. R. KOCH, UND DR. C. FLÜGGE,

GEH. MEDICINALRATH UND DIRECTOR DES INSTITUTES FÜR INFECTIONS-KRANKHEITEN ZU BERLIN,

O. Ö. PROFESSOR UND DIRECTOR DES HYGIENISCHEN INSTITUTES DER UNIVERSITÄT BRESLAU.

NEUNUNDZWANZIGSTER BAND.

MIT ZAHLREICHEN ABBILDUNGEN IM TEXT UND ACHT TAFELN.



LEIPZIG,

VERLAG VON VEIT & COMP.

1898.

Druck von Metzger & Wittig in Leipzig.



Inhalt.

Seite

Martin Ficker, Ueber Lebensdauer und Absterben von pathogenen Keimen . 1

Heinrich Winterberg, Zur Methodik der Bakterienzählung 75

N. Berestnew, Ueber Pseudoaktinomykose. (Hierzu Taf. I—III.) 94

Rafael Minervini, Ueber die baktericide Wirkung des Alkohols 117

Lorenz, Berichtigung zu dem Aufsatze über Impfungen zum Schutz gegen den Rothlauf der Schweine und zur Kenntniss des Rothlaufbacillus von O. Voges und W. Schütz in Berlin 149

Schütz, Erwiderung auf vorstehende Berichtigung 153

Paul Hilbert, Ueber die Steigerung der Giftproduction der Diphtheriebacillen bei Symbiose mit Streptokokken 157

Slawyk und Manicatide, Untersuchungen über 30 verschiedene Diphtheriestämme mit Rücksicht auf die Variabilität derselben 181

Soerensen, Ueber Diphtheriebacillen und Diphtherie in Scharlachabtheilungen 250

C. Flügge, Die Wohnungsdesinfection durch Formaldehyd 276

W. Kolle und George Turner, Ueber Schutzimpfungen und Heilserum bei Rinderpest 309

Carl Seybold, Ueber die desinficirende Wirkung des Metacresols Hauff im Vergleich zu Orthocresol, Paracresol, Tricresol Schering, Phenol und Guajakol 377

Ludwig Blumreich und Martin Jacoby, Ueber die Bedeutung der Milz bei künstlichen und natürlichen Infectionen 419

W. Hesse und Niedner, Die Methodik der bakteriolog. Wasseruntersuchung . 454

Francesco Sanfelice, Ueber die pathogene Wirkung der Blastomyceten. (Hierzu Taf. IV—VIII.) 463

E. Opitz, Beiträge zur Frage der Durchgängigkeit von Darm und Nieren für Bakterien 505

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Leipzig.]

Ueber
Lebensdauer und Absterben von pathogenen Keimen.

Von

Dr. med. **Martin Ficker,**
Assistenten am Institut.

Im Getriebe der Natur nehmen die Mikroorganismen der winzigen Dimensionen ihres Zellleibes wegen eine gesonderte Stellung ein. Gerade durch diese Kleinheit, die den Grundcharakter ihres Wesens bildet, ist es ihnen ermöglicht, mit geringsten Stoffmengen ihren Körper aufzubauen. Die Raschheit, mit der sich die Theilung und Vermehrung vollzieht, gestattet, dass sie in kürzester Zeit sich den Aussenzuständen, die einem fortwährenden Wechsel unterliegen, anzupassen vermögen, und sie müssen das, wenn die Art erhalten bleiben soll. Wir sehen in der Natur, dass die wechselnden Zustände des Klimas, der Temperatur und der Feuchtigkeit fortwährend auf die Bakterien einwirken, und wir können leicht constatiren, wie diese Aussenmomente eine lebenerhaltende oder verheerende Wirkung äussern. Die Natur bewältigt die Keime nicht durch gewaltsame Eingriffe und Desinfectionsmittel, wie sie sich in den Händen des sachkundigen Mediciners als vernichtende Waffen bewährt haben, und gleichwohl vermag sie durch die Gunst oder Ungunst ihres Wirkens mehr zu erreichen, als Menschenhand oder Menschenabsicht vermag. Als solche Momente, durch welche das Leben dieser einfachen Zellgebilde beeinträchtigt wird, sind die Wirkungen des Trocknens, der Temperatursteigerung, der Mangel an Nährmaterial, die Anhäufung von Giftstoffen und Ausscheidungsproducten hervorzuheben. Eine grosse Reihe von Einzelbeobachtungen über Einwirkungen dieser Art sind in der Litteratur nieder-



gelegt. Eine Durchsicht der zahlreichen Arbeiten zeigt, dass ganz verschiedenartige Ergebnisse diesen Untersuchungen entsprangen. Wenn wir beispielsweise sehen, dass ein Keim, wie der Cholerabacillus, dem Eintrocknen einmal in der kurzen Frist von wenigen Stunden erliegt, während bei anderen Versuchen die Lebensdauer unter anscheinend gleichen Umständen Monate lang beträgt, so kann dies durch das biologische Verhalten des Keimes selbst nicht erklärt werden. Es erschien mir deshalb von Bedeutung, durch systematische Versuchsanordnungen, wobei alle Nebenumstände bis ins kleinste Maass hinein Berücksichtigung fanden, festzustellen, ob sich ein gesetzmässiges Verhalten dieser Einwirkungen ermitteln lässt, d. h. ob wir die Versuchsanordnungen von vornherein derart treffen können, dass ein bestimmtes Resultat mit Sicherheit sich ergiebt. Hierzu ist es nothwendig, in erster Linie die einfachsten Versuchsbedingungen zu schaffen. Aus dem Grunde wählte ich zu den nachfolgenden Untersuchungen Organismen, welche auf den üblichen Nährböden eine Dauerform nicht bilden, nämlich die Erreger der Cholera, des Typhus, der Diphtherie und der Pest. Mein Wunsch war, die Gesetze des Zugrundegehens und der Lebenserhaltung zu verfolgen, wenn die genannten Keime den unter natürlichen Verhältnissen so häufig eintretenden Zuständen eines langsamen oder rascheren Trockenwerdens ausgesetzt sind, wie sich die Keime verhalten, wenn ihnen Nährmaterial entzogen wird oder wenn ihnen Nährstoffe und Ausscheidungsproducte durch eine rasche und reichliche Wasserzufuhr weggenommen werden, und endlich erschien es als besonderer Erwägung werth, ob der kleine Bakterienzellkörper schon bei minimalsten Reizen Ausschläge zu geben vermag.

Hrn. Geh. Medicinalrath Prof. Dr. F. Hofmann spreche ich für die vielseitige Anregung und mannigfache Rathertheilung im Verlaufe der vorliegenden Arbeit meinen herzlichsten Dank aus.

A. Austrocknen von Keimen.

Ein wichtiges Mittel, dessen sich die Natur in weitgehendstem Maasse bedient, um dem Leben der Bakterien ein Ziel zu setzen, ist das Austrocknen. Wie für jede Zelle, so gilt eben auch für die Bakterienzelle der Satz, dass ihr nur dann eine Lebensthätigkeit ermöglicht ist, wenn sie in ausreichendem Maasse über Wasser verfügt, um einerseits die Nährstoffe leicht aufzunehmen und andererseits die erzeugten Stoffwechselproducte rasch nach aussen abgeben zu können. Nur einzelne Mikroorganismen sind befähigt, einer Wasserentziehung mit einem Uebergang in eine Dauerform zu beantworten: vielen anderen ist dies unmöglich, für sie ist der



Tod unausbleiblich, wenn der Wasserverlust eine gewisse Grenze erreicht. Dass diesem Verwelken, wenn man so sagen darf, die meisten, nicht sporenbildenden Keime verfallen, hat man frühzeitig erkannt. Und diese Erkenntniss und das Weiterverfolgen dieser Thatsache war ja von allergrösster Bedeutung für die Erforschung der Verbreitung der Infectionskrankheiten. Die Beantwortung der Frage, ob ein pathogener Keim dem Austrocknen mehr oder weniger Widerstand entgegensetzt und in diesem Falle, ob er durch die Luft übertragbar ist, bildet einen Haupttheil der Streitfragen.

Es erscheint gerechtfertigt, aus der vorhandenen reichen Litteratur über die Wirkung des Trocknens dem Leser eine Uebersicht der wichtigsten und zuverlässigsten Resultate zu geben. Bei einer solchen Uebersicht musste berücksichtigt werden das Alter der Cultur, da man vielfach anzunehmen geneigt war, es würden ältere Culturen eine grössere Widerstandsfähigkeit gegenüber Austrocknen besitzen als junge. Nicht minder war zu beachten, auf welchem Nährboden die Keime gezüchtet wurden und ebenso, bei welcher Temperatur das Wachsthum erfolgte. Von grösstem Einflusse musste endlich der Umstand sein, auf welchem Objecte die Trocknung sich vollzog.

Die Versuche scheiden sich in solche, bei welchen das Austrocknen in gewöhnlicher Luft, sowie in solche, bei denen es im Exsiccator stattfand. Nachfolgende Tabelle giebt zunächst die Lebensdauer bei Trocknen der Cultur auf der Fläche von Deckgläschen, Glasplatten oder Glasscherben wieder.

Tabelle I.

A. Cholera.

I. Eintrocknungsversuche auf Glas.

a) Bei gewöhnlicher Luft.

Autor	Alter der Cultur in Tagen	Temp. der Züchtung Grad C.	Culturboden	Haltbarkeit in Stunden Min.	Haltbarkeit in Stunden Max.	Haltbarkeit in Tagen Min.	Haltbarkeit in Tagen Max.	Art des Glases
Kitasato [1]	1	—	Bouillon	—	3	—	—	Deckglas
Koch [2]	—	—	„	3	4	—	—	„
Berckholtz [3]	4	37	„	—	>24	—	—	„

[1] Kitasato, Die Widerstandsfähigkeit der Cholerabakterien gegen das Eintrocknen und gegen Hitze. *Diese Zeitschrift.* 1889. Bd. V. S. 134ff. — Nachtrag zu der eben citirten Arbeit. *Ebenda.* Bd. VI. S. 11.

[2] R. Koch, Bericht über die Thätigkeit der zur Erforschung der Cholera entsandten Commission. *Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt.* 1887. Bd. III. S. 166ff.

[3] Berckholtz, Untersuchungen über den Einfluss des Eintrocknens auf die Lebensfähigkeit der Cholerabacillen. *Ebenda.* 1889. Bd. V. S. 1ff.



Tabelle I. (Fortsetzung.)

Autor	Alter der Cultur in Tagen	Temp. der Züchtung Grad C.	Cultur-boden	Haltbarkeit in Stunden Min.	Haltbarkeit in Stunden Max.	Haltbarkeit in Tagen Min.	Haltbarkeit in Tagen Max.	Art des Glases
Guyon [1]	„jung"	—	Bouillon	—	—	—	3	Glasplatte
Berckholtz	4	37	„	—	>24	—	6	Glasscherben
„	4	37	„	—	>24	—	7	Erlenmeyer
„	—	Zimmer	Gelatine	$^1/_2$	24	—	—	Deckglas
Kitasato	4 bis 102	—	„	30	40	—	—	„
Berckholtz	4	37	„	—	—	—	6	Erlenmeyer
„	—	Zimmer	„	2	—	—	7	Glasscherben
„	4	37	„	>24	—	—	8	„
Kitasato	9	Zimmer	Agar	—	30	—	—	Deckglas
„	1	37	„	—	—	—	2	„
Berckholtz	4	37	„	>24	—	—	2	„
„	4	37	„	>24	—	—	4	Erlenmeyer
„	4	37	„	—	—	2	5	Glasscherben
„	4	37	Serum	—	>24	—	—	„
„	4	37	„	—	—	—	2	Erlenmeyer
Kitasato	3	37	„	—	—	—	2	Deckglas
„	10	Zimmer	„	—	—	—	2	„
Berckholtz	4	37	Milch	—	>24	—	—	Glasscherben
			b) Im Exsiccator.					
Kitasato	1	—	Bouillon	3		—	—	Deckglas
Berckholtz	4	37	„	—		1	9	Glasscherben
Finkler-Prior [2]	„alte"	—	„	—		—	105	Glasplatte
Berckholtz	4	37	Gelatine	—		12	16	Glasscherben
Kitasato	9	Zimmer	Agar	30		—	—	Deckglas
„	1	37	„	—		—	2	„
Berckholtz	4	37	„	—		—	15	Glasscherben
Kitasato	10	Zimmer	Serum	—		—	3	Deckgläschen
„	3	37	„	—		—	4	„
Berckholtz	4	37	Milch	—		—	1	Glasscherben
Guyon	„junge"	—	Bouillon	—		—	120	Glasplatten

In der folgenden Tabelle werden diejenigen Versuche berücksichtigt, bei denen die Haltbarkeit von Cholerabacillen an Seidenfäden geprüft wurde.

[1] Guyon. *Archiv. de méd. expér. et d'anat. pathol.* 1892. Nr. 1.

[2] Finkler u. Prior, Forschungen über Cholerabakterien. *Ergänzungshefte . Centralblatt für allgemeine Gesundheitspflege.* 1885. Bd. I. S. 398.

Tabelle II.

II. Eintrocknungsversuche auf Seidenfäden.

Trocknung in gewöhnlicher Luft. Im Exsiccator.

Autor	Alter der Cultur in Tagen	Temp. der Züchtung	Cultur-boden	Haltbarkeit			Haltbarkeit in Tagen	
				in Stunden	in Tagen			
		Grad C.			Min.	Max.	Minim.	Max.
Sirena u. Alessi	—	—	Bouillon	1 bis 5	—	—	2½	5
Kitasato	1	—	„	24	—	—	1½	—
Berckholtz	1	25	„	24	—	—	—	1
„	6	37	„	24	—	—	—	1
„	5	37	„	—	—	3	—	16
„	2	37	„	—	—	3	—	18
„	1	37	„	—	1	7	1	33
„	3	37	„	—	1	30	3	104
„	4	37	„	—	1	30	> 1	186
„	—	18—22	Gelatine	—	—	1	—	—
Kitasato	4 bis 102	—	„	—	2	4	3	5
Berckholtz	1	37	„	—	—	> 5	—	13
„	2	37	„	—	—	> 5	—	19
„	3	37	„	—	1	11	1	41
„	5	37	„	—	—	12	—	23
„	4	37	„	—	> 5	15	20	50
Sirena u. Alessi	—	—	Agar	1 bis 5	—	—	2½	5
Berckholtz	1	25	„	—	—	1	—	1
„	3	Zimmer	„	—	—	1	—	1
Kitasato	1	37	„	—	—	3	—	3
Berckholtz	1	Zimmer	„	—	—	4	—	4
Kitasato	9	„	„	—	—	4	—	14
Berckholtz	5	37	„	—	1	5	5	9
„	3	37	„	—	1	5	10	17
„	4	37	„	—	1	10	5	16
„	2	37	„	—	—	11	—	>5
„	5	Zimmer	„	—	—	15	—	5
„	1	37	„	—	> 1	21	7	167
„	4	37	Serum	—	—	3	—	—
Kitasato	3	37	„	—	—	4	—	20
„	10	37	„	—	—	3	—	16
Berckholtz	3	37	Kartoffel	—	12	23	1	12
Gamaleïa	—	—	—	—	4	8	—	—

Die folgenden Tabellen geben die Versuchsergebnisse der Antrocknung von Cholerakeimen auf Gewebsarten und an Staubsorten wieder.

Tabelle III.

III. Eintrocknung auf Geweben.

Bei gewöhnlicher Luft. **Im Exsiccator.**

Autor	Alter der Cultur in Tagen	Temp. der Züchtung	Culturboden	Haltbarkeit in		Haltbarkeit in		Art der Gewebe und der Erde
				Std.	Tagen	Std.	Tagen	
Koch	1 Tag bis Wochen	—	verschieden	3—5	—	—	—	Leinwand
"	4	37	Kartoffel	—	1	—	—	
"	4	25	"	—	> 1	—	—	
"	—	—	Darminhalt	—	1	—	—	
Gamaleïa	—	—	"	40	—	17	—	Leinwand
Hesse	—	—	Bouillon	22	—	—	—	Shirting
Berckholtz	—	—	"	—	3—5	—	3—39	Leinwand
Germano	—	—	Agar od. Bouillon	—	1	—	—	Seidenstückchen
"	—	—	"	—	3	—	—	Leinwand, Wolle
IV. Eintrocknen auf Erde u. s. w.								
Koch	1 T. bis W.	—	verschieden	3—5	—	—	—	Erde
Berckholtz	—	—	—	—	2	—	—	Gartenerde
Williams	—	—	—	3	—	—	—	Staub
Uffelmann	—	—	—	—	2	—	—	Gartenerde
"	—	—	—	20	—	—	—	weisser Sand
"	—	—	—	24	—	—	—	Strassenkehricht
Dempster	—	—	—	—	3	—	—	Sand, Gartenerde
Germano	—	—	Agar od. Bouillon	—	1	—	>1	Feinsand, Löss, Ziegelmehl
"	—	—	"	—	3	—	1	Tuff
"	—	—	"	—	3—4	—	1	Humus
"	—	—	Fäces	—	3	—	—	Zimmerstaub
"	—	—	"	—	2	—	—	Feinsand

[1] Sirena e Alessi, Influenza del disseccamento su taluni microrganismi patogeni. *La riforma med.* 1892. p. 156 u. 173.

[2] Gamaleïa, Ueber das Leben der Cholerabacillen im Wasser unter dem Einflusse des Eintrocknens und der Feuchtigkeit. *D. med. Wochenschrift.* 1893. S. 1250.

[3] Hesse, Ueber Aetiologie der Cholera. *Diese Zeitschrift.* 1893. Bd. XIV. S. 30.

[4] Germano, Die Uebertragung der Infectionskrankheiten durch die Luft. IV. Mittheilung. *Ebenda.* 1897. Bd. XXVI. S. 276 ff.

[5] William, Versuche über die Verbreitung der Cholerabacillen durch Luftströme. *Ebenda.* Bd. XV. S. 166 ff.

[6] Uffelmann, Können lebende Cholerabacillen mit dem Boden- und Kehrichtstaub verschleppt werden? *Berliner klin. Wochenschrift.* 1893. S. 617 ff.

[7] Dempster, The influence of different kinds of soil on the Comma and Typhoïd Organisms. *Brit. med. Journal.* 1894. p. 1128.



Ausser den mitgetheilten Versuchen haben noch andere Angaben hier Berücksichtigung zu finden, die speciell die Frage der Sporenbildung der Cholerabacillen betreffen und gleichzeitig die Wirkung des Trocknens berühren. Die Ferran'schen[1] Mittheilungen von endogener Sporenbildung und der Auskeimung der frei gewordenen Sporen zu neuen Spirillen wurden bekanntlich von Koch,[2] van Ermengem,[3] Raptschewski[3] u. A. widerlegt. Die Frage kam aber neu in Fluss, als Hueppe[4] in dem Auftreten der bekannten kugeligen Gebilde einen echten Fructificationsvorgang erblicken wollte. Diese „Arthrosporen" sollten angeblich gegen das Eintrocknen resistenter als die vegetativen Choleraformen sein. Dieselbe Ansicht stützt u. A. Zäslein,[5] der die gewöhnlichen Kommaformen 2 bis 5 Minuten, die Arthrosporen jedoch 3 Stunden und 20 Minuten der Austrocknung widerstehen sah. In der Folge bewiesen de Simone,[6] sowie Nicati und Rietsch,[6] dass die Hueppe'schen Arthosporen der Eintrocknung keinen grösseren Widerstand entgegensetzten. Auch Gruber[7] betont, dass die in alten Culturen sich findenden Kügelchen unter keinen Umständen das Austrocknen ertrügen. A. Neisser[8] endlich fand eher die Choleraculturen um so weniger resistent, je älter sie waren, je mehr Körner sie also enthielten.

In Tabelle IV sind die hauptsächlichsten bisherigen Versuchsergebnisse des Eintrocknens von Typhusbacillen zusammengestellt.

---

[1] Ferran nach Baumgarten. *Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen.* 1885. Bd. I. S. 110.

[2] Koch, Conferenz zur Erörterung der Cholerafrage. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1884. S. 477. — 1885. Nr. 37a.

[3] van Ermengem, Raptschewski, nach Baumgarten, *Jahresber.* 1885. Bd. I. S. 110 u. 111.

[4] Hueppe, Ueber die Dauerformen der sogen. Kommabacillen. *Fortschritte der Medicin.* 1885. S. 619.

[5] Zäslein. *Tageblatt der 59. Versammlung deutscher Naturforscher u. Aerzte zu Berlin.* 1886. S. 206.

[6] De Simone, Nicati und Rietsch, nach Baumgarten. *Jahresber.* 1886. Bd. II. S. 293 bezw. 295.

[7] Gruber, Bakteriologische Untersuchung von choleraverdächtigen Fällen unter erschwerenden Umständen. *Wiener med. Wochenschrift.* 1887. S. 224.

[8] Neisser, Versuche über die Sporenbildung bei Xerosebacillen, Streptokokken und Choleraspirillen. *Diese Zeitschrift.* 1888. Bd. IV. S. 165.

B. Typhus.

Tabelle IV.

Autor	Culturboden	Haltbarkeit in Tagen	Object der Fixation	Ort der Aufbewahrung
Gaffky[1]	Serum	90	Deckgläschen	im Zimmer
Seitz[2]		28	Seidenfäden	"
Sirena und Alessi[3]	Agar	41	"	über Schwefelsäure
"	"	1	"	über Chlorcalcium
"	"	18	"	im Brütschrank 37°
"	"	64	"	an „schattiger Stelle"
Billings und Peekham[4]		229	"	im Dunkeln
"		213		im Exsiccator
Uffelmann[5]	Bouill. + Fäces	21	Gartenerde	im Zimmer
		82	weisser Sand	"
		32	Haus- u. Strassenkehr.	"
		60—80	Leinwand, Buckskin	"
Dempster[6]		9	weisser Sand	"
"		14	schwarze Erde	"
		18	gelber Sand	"
Kruse und Pfaffenholz[7]		5—15		
Germano[8]	Bouill.od.Agar	1	Feinsand, Tuffboden	"
	"	3	Ziegelstaub	"
	"	5	Humus	"
	"	3	Löss	"
	Fäces	25	Zimmerstaub, Feinsand, Humus	"
		50	Leinwand	"
		90	Wolle	"

[1] Gaffky, Zur Aetiologie des Abdominaltyphus. *Mittheilungen aus dem Kais. Gesundheitsamt.* 1884. Bd. II. S. 390.

[2] Seitz, Bakteriologische Studien zur Typhus-Aetiologie. Baumgarten's *Jahresbericht.* 1886. Bd. II. S. 165.

[3] Sirena e Alessi. *Riforma med.* 1892. p. 173.

[4] Billings and Peekham, The influence of certain agents in destroying the vitality of the typh. and of the colonbac. *Science.* 1895. p. 169.

[5] Uffelmann, Versuche über die Widerstandsfähigkeit der Typhusbac. gegen Trocknung und über die Möglichkeit ihrer Verschleppung durch die Luft. *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.* 1894. Bd. XV. S. 133.

[6] Dempster. *Brit. med. Journal.* 1894. p. 1128.

[7] Kruse u. Pfaffenholz, nach Flügge's *Mikroorganismen.* 1896. 2. Aufl. S. 385.

[8] Germano, Die Uebertragung von Infectionskrankheiten durch die Luft. I. Mittheilung. *Diese Zeitschrift.* 1897. Bd. XXIV. S. 403.



Auch bei Typhus wurde gelegentlich der Bearbeitung der Sporenfrage die Resistenz gegenüber dem Eintrocknen in Erwägung gezogen. So liess **Buchner**[1] kleine Mengen „körnerloser" oder „körnerhaltiger" Typhusbacillen auf Deckgläschen antrocknen und gab diese in den Trockenschrank bei 50 und 60° C.; die vergleichenden Versuche zeigten, dass die körnerfreien Bacillen 20 Minuten lang Trocknung bei 60° und ³/₄ Stunde bei 50° aushielten, hingegen waren solche mit wohlausgebildeten Körnern schon durch das blosse Antrocknen bei Zimmertemperatur, mit voller Sicherheit aber durch einen nur 5 Minuten langen Aufenthalt bei 60° getödtet. **Pfuhl**[2] handhabte dieselbe Methode, nur liess er die Deckgläschen bei Zimmertemperatur unter Glasglocke liegen. Er constatirte, dass die „sporen"haltigen Zellen nach 5 Wochen sich nicht mehr entwickelten, die „sporen"freien Stäbchen jedoch erwiesen sich mit einigen Ausnahmen noch nach 8 bis 10 Wochen als gut vermehrungsfähig, ja selbst nach 14 Wochen keimten noch reichlich Typhuscolonieen aus.

In der nächsten Tabelle sind die mit Diphtheriebacillen angestellten Versuche zusammengefasst.

C. Diphtherie.

Tabelle V.

Autor	Culturboden	Haltbarkeit in Tagen	Object der Fixation	Aufbewahrt
Löffler[3]	—	28	Seidenfäden	bei gewöhnlicher Luft
„	—	35—98	„	im Exsiccator
„	Membran	63—112	—	
„	Serum	121	„	„ „ bei Tageslicht
„	„	189	„	„ „ im Dunkeln
Klein[4]	Membran	120	—	bei gewöhnlicher Luft
d'Epine et de Marignac[5]		90—105	„	„
Park[6]	Membran	120	—	„

[1] **Buchner**, Ueber die vermeintlichen Sporen der Typhusbacillen. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. IV. S. 353.

[2] **Pfuhl**, Zur Sporenbildung der Typhusbacillen. *Ebenda.* Bd. IV. S. 769.

[3] **Löffler**, Welche Massregeln erscheinen gegen die Verbreitung der Diphtherie geboten? *Berliner klin. Wochenschrift.* 1890. S. 885.

[4] **Klein**, citirt bei **Abel**.

[5] **D'Espine et de Marignac**, dto.

[6] **Park**, dto.



Tabelle V. (Fortsetzung.)

Autor	Cultur-boden	Haltbarkeit in Tagen	Object der Fixation	Aufbewahrt
Roux et Yersin [1]	Membran	150	—	in Leinwand eingewickelt
Abel [2]	—	61	Seidenfäden	im Freien, im Winter
„	—	74	„	bei gewöhnl. Zimmerluft
Escherich [3]	Membran	30	—	„
Pernice [4]	„	53	—	„
Reyes [5]	—	$1^1/_2$		über Schwefelsäure
„	—	12	Leinwand	bei gewöhnlicher Luft
„	—	5	Seide	„
„	—	4	Papier	„
„	—	14	Sand	„
„	—	100	Mörtel	„
Golowkow [6]	—	20	Leindwand u. Tuch	an belichteter Stelle
„	—	1	Satin ungewaschen	„
„	—	20	„ gewaschen	
Germano [7]	Bouillon	40	Feinsand	
„	„	35	Humus	
„	„	30	Tuffboden	
„	„	50	Löss	
„	„	16	Ziegelmehl	
„	„	50	Feinsand	über Schwefelsäure
„	„	40	Humus, Tuff	„
„	„	60	Löss	„
„	„	20	Ziegelmehl	„

[1] Roux et Yersin, Contribution à l'étude de la diphthérie. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1890. p. 385.

[2] Abel, Beitrag zur Frage von der Lebensdauer der Diphtheriebacillen. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1893. Bd. XIV. S. 756. — Versuche über das Verhalten der Diphtheriebacillen gegen Einwirkung der Winterkälte. *Ebenda.* 1895. Bd. XVII. S. 545.

[3] Escherich, *Aetiologie und Pathogenese der epidemischen Diphtherie.* I. Wien 1894. S. 256.

[4] Pernice e Scagliosi, nach Baumgarten's *Jahresbericht.* 1895. Bd. XI. S. 202.

[5] Reyes, Sulla vitalità del bacillo della difterite. *Annali d'igiene sperimentale.* Nuova ser. 1895. Vol. V. p. 501.

[6] Golowkow, nach Baumgarten's *Jahresbericht.* 1895. Bd. XI. S. 204.

[7] Germano, Die Uebertragung von Infectionskrankheiten durch die Luft. II. Mittheilung. *Diese Zeitschrift.* 1897. Bd. XXV. S. 439.



Die mit Pestbacillen ausgeführten Antrocknungsversuche lassen sich folgendermassen zusammenfassen.

D. Pest.

Tabelle VI.

Autor	Cultur-boden	Object der Fixation	Aufbewahrt	Haltbarkeit	
				in Std.	in Tag.
Kitasato[1]	Bubonen-eiter, Serum	Deckglas	28—30° C.	—	4
Wilm[2]	—	„	—	—	4½
„	—	„	im Exsiccator	3	—
Abel[3]	ver-schieden	verschieden	bei 35° im Brütschr. oder bei 20° im Exsiccator	—	2—3
„		Deckglas	16—20° C.	—	bis 14
„		Fäden, Leinenstücke, Organtheilchen		—	30
de Giaxa[4]	Blut, Eiter	Leinwandstreifen	10—20° C.	—	30
„	„	„	30—35° C.	—	5
Deutsche Pestcommiss.[5]	—	Wolle, Seidenzeug, Gaze	im Laboratorium	—	6
„	—	Seidenfäden	„	—	5
„	—	Filterpapier	„	—	3
„	—	Glassplitter	„	—	2
Germano[6]	Bouillon	Staub	im Exsiccator	—	1
„	„	„	lufttrocken	—	3—5
„	„	Zimmerstaub	„	—	1
„	„	Leinwand	„	—	1
„	„	„	im Exsiccator	—	12
„	„	Wollstücken	Zimmerluft und Exsiccator	—	30
„	„	Seidenstücken	Zimmerluft	—	25
„	„	„	im Exsiccator	—	16
„	„	Fliesspapier	in Zimmerluft	—	4
„	„	„	im Exsiccator	—	1

[1] Kitasato. *Preliminary notice of the bacillus of bubonic plague.* Hongkong 1894. July 7.

[2] Wilm, Ueber die Pestepidemie in Hongkong im Jahre 1896. *Hygienische Rundschau.* 1897. Bd. VII. S. 290.

[3] Abel, Zur Kenntniss des Pestbacillus. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1897. Bd. XXI. S. 505.

[4] de Giaxa e Gosio. Referat im *Centralblatt für Bakteriol.* 1897. Bd. XXII. S. 351. — Gosio, Die Arsenikatur der Zelle in Hinsicht auf die Prophylaxis gegen Bubonenpest. *Hygienische Rundschau.* 1897. Bd. VII. S. 1225.

[5] Weitere Mittheilungen der deutschen Pestcommission aus Bombay, erstattet am 7. und 26. Mai. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1897. S. 501.

[6] Germano, Die Uebertragung von Infectionskrankh. durch die Luft. IV. Mittheilung. *Diese Zeitschrift.* 1897. Bd. XXVI. S. 281.

Ein Blick auf die angeführten Resultate früherer Arbeiten lehrt uns, dass die mit ein und derselben Spaltpilzart angestellten Trocknungsversuche höchst differente Ergebnisse zu Tage gefördert haben. Wenn der Cholerabacillus beispielsweise, wie aus den Versuchen in der allerersten Zeit nach der Entdeckung hervorgeht, nach wenigen Stunden, nach späteren Mittheilungen aber erst nach über $^1/_2$ Jahr dem Trocknen erlag, so weist diese Thatsache allein schon darauf hin, dass dies verschiedene Verhalten nicht in den Eigenschaften des Cholerakeims an und für sich, sondern in der verschiedenen Behandlungsweise, die die Keime erfuhren, beruhen müsse. Dass gerade bei bakteriologischen Arbeiten Versuche über denselben Gegenstand in verschiedenen Händen zu verschiedenem Ziele führen, hat wohl immer in dem Wechsel der Versuchsbedingungen seine Begründung, und dieser findet immer statt, wenn zwei dasselbe thun. Aber nicht nur in den Versuchen der verschiedenen, sondern auch bei denen derselben Autoren begegnen wir weitgehenden Differenzen der Resultate. Die meisten Arbeiten gehen auf die Ergründung dieses Umstandes nicht näher ein, andere widmen der Aufklärung der Verschiedenheit der Ergebnisse besondere Versuchsreihen, ohne dass sie indessen ein gesetzmässiges Verhalten constatiren konnten.

Die Bedeutung der früheren Arbeiten soll mit dem Hervorheben der Inconstanz der Bedingungen und Ergebnisse keineswegs geschmälert werden, vielmehr besitzen diese schon deshalb einen hohen Werth, weil ein jeder solcher Laboratoriumsversuch unter Umständen doch einmal durch die Natur in mehr oder weniger ähnlicher Weise wiederholt werden kann. Mit einander verglichen aber zeigen uns die Versuche, dass wir noch nicht am Abschluss der Beantwortung von bisher recht intensiv bearbeiteten Fragen angelangt sind.

Eigene Versuche.

Wie aus einer vergleichenden Betrachtung der Versuchsanordnungen der verschiedenen Autoren hervorgeht, sind geringe Veränderungen der Bedingungen im Stande, ganz gewaltig divergirende Ergebnisse zu zeitigen. Es lag mir daran, einige Momente herauszugreifen, die mitbestimmend für das Endresultat sein konnten, die aber bei den bisherigen Versuchen nicht oder nur beiläufig angedeutet sind. Die Versuche mussten unter einander vergleichbar sein, um den wirksamen Einfluss variabler Bedingungen erkennen zu lassen, ich musste daher so einfach, als es ging, verfahren und Versuchsanordnungen treffen, die mit möglichst wenig Unbekannten rechneten.



Massnahmen zur gleichmässigen Gestaltung der Versuchsanordnungen.

Von den weiter unten noch näher zu leleuchtenden Momenten, durch deren Variiren man Trocknungsversuche zu den verschiedensten Resultaten führen kann, sind vor allem als bedeutungsvoll hervorzuheben

1. die Menge und Beschaffenheit der zu trocknenden Cultur und

2. die Objecte, an welche die zu untersuchenden Keime fixirt werden sollen.

Dass die Menge und Art der Cultur, mit der wir einen Gegenstand behufs Antrocknung inficiren, von grossem Einfluss auf die Haltbarkeit der Keime sein wird, ist ohne Weiteres klar: wenn man Bouillon-, Gelatine- oder Agartheilchen gleichzeitig mit den Keimen an Objecte überträgt, so handelt es sich dann nicht mehr um die Frage, wie lange widerstehen die Keime an und für sich der Schädigung, sondern vielmehr: wie lange braucht der Nährboden zum Trocknen und wie lange ist er im Stande, die Keime zu schützen. Suspendirt man die letzteren in einer schwer einzutrocknenden Flüssigkeit, vielleicht Glycerinbouillon, oder haften sie an festeren gelatinösen Partikelchen, dann werden sie je nach der Verfassung der plasmatischen Substanz, die wiederum von Quantität und Qualität der dargebotenen Nährstoffe abhängt, die eintretende Wasserverdunstung verschiedenartig ertragen müssen. Damit ist schon angedeutet, dass nicht alle Keime derselben Cultur auf dieselbe Weise reagiren werden; denn ein Keim einer Cultur ist nicht als gleichwerthig seinen Vegetationsgenossen zu betrachten. Die Colonie selbst bietet schon weitgehende Mannigfaltigkeit der Wachsthumsbedingungen. So müssen wir für vergleichbare Versuche wohl unterscheiden, ob wir Keime den peripheren oder den centralen Zonen einer Cultur entnehmen. Schon Gruber und Wiener[1] beobachteten, dass Rand und Mitte einer Choleracultur ungleiche Virulenz besitzen, indem die aus den mittleren Culturtheilen entnommenen Keime schwächer auf den Meerschweinchenorganismus einwirkten. Wie Gotschlich und Weigang[2] mit Recht vermuthen, lässt diese Virulenzverschiedenheit auch hier auf eine Verschiedenheit der Individuenzahl sich zurückführen. Bei genauen Keimzählungen von 2 mg Culturmasse ergab sich, dass der Keimgehalt der Randzone besonders in den 2 Tage alten und älteren Culturen den der mittleren Partieen um ein Be-

[1] Gruber u. Wiener, Cholerastudien. I. *Archiv für Hygiene.* 1893. Bd. XV. S. 241.

[2] Gotschlich u. Weigang, Ueber die Beziehungen zwischen Virulenz und Individuenzahl einer Choleracultur. *Diese Zeitschrift.* 1895. Bd. XX. S. 379.



deutendes überragte, ja dass die Individuenzahl des Randes zu einer Zeit noch in der aufsteigenden Linie sich bewegt, zu der in den centralen Theilen schon erhebliche Wachsthumshemmung sich geltend macht. Bei jungen, bis 20 Stunden alten Culturen liess sich hingegen eine Constanz im Verhalten von Rand und Mitte nicht constatiren, die gesammte Vegetation ist eben um diese Zeit auf der Höhe der Entwickelung. Um Differenzen von dieser Seite ganz aus dem Wege zu gehen, benutzte ich nur Oberflächenculturen auf Agarplatten. Bald nach dem Erstarren des ausgegossenen Agars impfte ich, immer mit derselben federnden Oese, die noch feuchte Oberfläche durch 5 Parallelstriche und erhielt so ein gleichmässig dickes Häutchen. Unter Benutzung dieser Flächencultur war es möglich, eine von Nährsubstanz fast freie Bakterienmasse zu erhalten. Das Abheben derselben geschah, ohne dass das Nährsubstrat verletzt wurde, in vorsichtiger Weise durch Berühren mit Nadel oder Oese. Eine weitere Vorsicht bei dem Bestreben, ein gleichmässiges Ausgangsmaterial von Keimen zu erzielen, wird durch die beim Ueberimpfen oft bemerkbare Thatsache geboten, dass Culturen um so rascher angehen, je jünger das Impfmaterial war. Man wird daher schon zum Anlegen der zu verwendenden Cultur von einheitlichen gleichaltrigen, bei Cholera wohl am besten von 18- oder 20stündigen Agarstrichculturen ausgehen.

Die Constanz des Nährbodens wurde durch die von Prof. F. Hofmann eingeführte Art der Herstellung der Nährmedien erreicht. Diese weicht bei ihrer Einfachheit und bei den hohen Vorzügen in nicht unerheblicher Weise von der in Lehrbüchern mitgetheilten ab und soll an anderer Stelle beschrieben werden. Sie ermöglicht schon dadurch ein gleichartiges Nährmaterial auch für grössere Versuchsreihen, dass das Fleischwasser in grösseren Mengen bereitet wird und dann, auf Bierflaschen gefüllt, sich beliebig lange Zeit vorräthig halten lässt. Die von dieser gleichen Lösung aus bereiteten Nährböden werden in immer gleichmässiger Weise mit Phenolphthaleïn als Indicator neutralisirt. Dass es bei consequenter Beachtung dieser und anderer Vorsichtsmassregeln möglich war, mit einem vergleichbaren Keimmaterial zu arbeiten, beweisen zahlreiche, später anzuführende Keimzählungen: gleiche Quantitäten des auf der Agarfläche gewachsenen Häutchens enthielten immer gleiche Mengen Keime, soweit wir bei bakteriologischem quantitativen Arbeiten von gleichen Zahlen sprechen dürfen; die Schwankungen des Keimgehaltes gleichaltriger Culturen, die in anderen Arbeiten erwähnt werden, habe ich unter diesen Umständen nie beobachten können.

Aber mit dem gleichmässigsten Bakterienmaterial wird man bei Antrocknungsversuchen seinen Resultaten eine verschiedene Wendung geben können, wenn man zum Fixiren der Keime Objecte wählt, welche durch



ihre physikalische oder chemische Beschaffenheit differente Bedingungen schaffen. Der conventionelle Seidenfaden beispielsweise gestattet bei der Durchtränkung mit keimhaltiger Flüssigkeit in den winzigen Interstitien seiner Fäserchen den Bakterien einen Unterschlupf, dessen bergender Schutz nach Art der Fäden und Herstellungsweise schon dem Wechsel unterliegt. Eine bei 140 ° trocken sterilisirte Kehrichtmasse andererseits wird bei der Durchfeuchtung mit einer Keimaufschwemmung Stoffe in Lösung übertreten lassen, die unmöglich gleichgültig für das Leben der Bakterien sich erweisen werden. Um diese und ähnliche Beeinflussungen von Seiten der zu inficirenden Objecte zu vermeiden, brachte ich die Culturtheilchen auf Deckgläschen zum Antrocknen, die durch vorheriges, $^1/_2$ Stunden langes Verweilen in einer Chromatmischung (chromsaures Natron 1, 25 proc. Schwefelsäure 4), darauffolgendem ausgiebigen Wässern unter der Wasserleitung und nachherigem öfteren Abspülen mit destillirtem Wasser gereinigt und nach dem Trocknen ausgeglüht wurden. Die Deckgläschen maassen 12 $^{mm^2}$, so dass sie mit Leichtigkeit in toto mitsammt der angetrockneten Keimmasse in unsere Culturröhrchen übertragen werden konnten.

Versuche mit Cholerabacillen.

1. Feststellung der Keimfähigkeit der angetrockneten Cultur.

Die ersten Versuche galten der Vorfrage, wie sich die Prüfung der Entwickelungsfähigkeit der auf den Deckgläschen angetrockneten Cholerakeime am sichersten gestalten liesse.

Es wurden von einer 20^h alten Agaroberflächencultur, die von ebenfalls 20^h alter Agarstrichcultur angelegt war, mittels besonders kleiner Oese kleine Bakterienmengen derart abgehoben, dass die Oese auf das Culturhäutchen ohne Druck sanft aufgelegt wurde, wobei augenscheinlich die gleiche Menge Cultur an derselben haften blieb. Diese wurde auf die mit ausgeglühter Pincette gefassten Deckgläschen aufgetragen und unter leichtem Rühren ausgebreitet. Die so bereiteten Objecte wurden sodann zu 8 oder 9 in sterile Doppelschälchen gelegt, die wiederum in Exsiccatoren Aufnahme fanden. Die letzteren stellte ich mir in der Weise her, dass ich den Boden von 10 ^{cm} hohen, 12 ^{cm} in der lichten Weite messenden und mit aufgeschliffenem Deckel versehenen Glasdosen — Dosen derselben Art sowie niedrigere sind von Prof. F. Hofmann im Institut seit Langem im Gebrauch zum Aufbewahren geimpfter Platten — mit einer 2 ^{cm} hohen Schicht von Chlorcalcium bedeckte und den Deckel durch Bestreichen mit einer Ceratmischung luftdicht aufsetzte. Die Dosen wurden sodann in den Brütschrank bei 25 ° C. gegeben und waren damit, wie bei allen übrigen Versuchen, vor Licht geschützt. Nach Verlauf bestimmter



Zeit wurden mit steriler Pincette je 3 Deckgläschen aus der Dose entnommen, je eins in eine sterile Platte gegeben und mit Gelatine übergossen („Gelatine I"), ein zweites wurde in ein Röhrchen mit verflüssigter Gelatine gebracht und nach Verreiben der trocknen Culturbröckchen durch die Nadel Platte gegossen („Gelatine II"). Das dritte Deckglas endlich ward in Röhrchen mit Peptonwasser von der bekannten Zusammensetzung übertragen („Peptonwasser").

+ = letztes positives, 0 = erstes negatives Resultat.

	Gelatine I.		Gelatine II.		Peptonwasser.	
	+	0	+	0	+	0
Vers. 1:	10^h	12^h	14^h	16^h	14^h	16^h
„ 2:	12	15	15	20	15	20
„ 3:	21	24	24	27	24	27

Beim 3. Versuch waren die Platten in Dosen ohne Chlorcalcium gegeben worden.

Wir sehen, dass die Methode des Uebergiessens der eingetrockneten Culturmasse mit Gelatine im Vergleich zu den beiden anderen Verfahren ungünstiger ausfiel, es wurde daher diese Art der Prüfung in der Folge unterlassen. Dass die Gelatine bei der zweiten Art der Handhabung vollkommen gleichwerthig mit der Peptonwassermethode sich erwies, konnte hier und noch bei zahlreichen späteren vergleichenden Beobachtungen constatirt werden: niemals erhielt ich auf der Gelatine ein Ausbleiben der Entwickelung, wenn das Peptonwasser noch anging, so dass ich mich bei der Prüfung auf die eine Methode beschränken durfte. Mit dem Constatiren dieses Befundes soll keineswegs der Peptonwassermethode Abbruch gethan und dem Koch'schen[1] Satze: „dass die Peptoncultur in Fällen noch positive Resultate giebt, in denen mit dem Gelatineplattenverfahren nichts zu finden war", schon deshalb nicht widersprochen werden, weil sich derselbe auf die Untersuchung von Fäces bezieht und auch da nur auf besondere, diagnostisch schwierige Fälle, und weil ich mit der Hofmann'schen Gelatine arbeitete, einem Umstande, dem ich ganz besonders die günstige Wirkung auf die Entwickelung auch schon abgeschwächter Cholerakeime zuschreiben möchte: diese Gelatine nämlich gestattet bei einem sehr niedrigen Leimgehalte das Aufbewahren der Platten bei einer Temperatur von 26 und 27° C.

Ich möchte nicht unterlassen, hier noch eine Beobachtung mitzutheilen, die ich bei der Musterung der durch Uebergiessen der getrockneten Cultursubstanz mit Gelatine erhaltenen Platten machen konnte und

[1] R. Koch, Ueber den augenblicklichen Stand der bakteriologischen Choleradiagnose. *Diese Zeitschrift.* 1893. Bd. XIV. S. 327.



die wohl auch zu Täuschungen führen kann, wenn man die Platten nur makroskopisch betrachtet: es war nämlich oft schon nach 24^h eine von den trockenen Culturbröckchen ausgehende Verflüssigung bemerkbar, die leicht als positives Resultat hätte gedeutet werden können. Im weiteren Verlaufe der Untersuchung stellte es sich heraus, dass das peptonisirende Ferment, das die Cholerabacillen produciren, auch noch von solchen todten Bacillenklümpchen aus seine leimlösende Thätigkeit auszuüben im Stande ist.

Um diesen Befund noch sicherer zu stellen, habe ich oft solche in der Gelatinemasse liegenden und verflüssigenden Keimmassen mit dem Deckgläschen herausgehoben und in Peptonwasser oder erneute Gelatine übertragen und Platten gegossen, schon um eventuelle Verunreinigungen im Verflüssigungskreise nachzuweisen: immer war die gelöste Leimsubstanz steril. Eine Angabe in der Litteratur über die peptonisirende Wirkung der durch Austrocknen getödteten Cholerabacillen habe ich nicht finden können, wohl aber gelang es Fermi[1] diese Fermentwirkung an Cholerakeimen noch festzustellen, die durch die Einwirkung von chemischen Agentien und höheren Wärmegraden, allerdings nicht nachweislich, sondern vermuthlich, abgetödtet waren. Bekanntlich war es Bitter,[2] der eine verflüssigte normale Gelatine nach Zusatz gewisser Mengen bei 60° C. abgetöteter Cholerabouilloncultur auch bei der Einwirkung einer Temperatur von 0° nicht wieder erstarren sah. —

2. Einfluss der Dicke der Trockenschicht.

Die nächsten Versuche sollten die Frage entscheiden, ob sich bei dem Auftragen verschieden dicker Culturschichten Schwankungen in den Resultaten zeigen, sowie ob sich diese vermeiden lassen würden.

Um dabei zwei extreme Fälle zu berücksichtigen, wurden

a) von einer 20 stündigen Cultur mittels Berührung derselben durch Platinnadel kleinste Mengen entlehnt, auf Deckglas gegeben und unter Horizontalhalten der Nadel durch leichtes Verreiben mit dem Längsrücken des Drahtes vertheilt, darnach in Schalen und Dosen mit und ohne Chlorcalcium übertragen,

b) ein anderer Theil von Deckgläschen erhielt von derselben Cultur den Inhalt einer etwa 2^{mg} fassenden Oese, der nicht auf der Deckglasfläche ausgebreitet wurde. Weitere Behandlung wie unter a.

[1] Fermi, Die leim- und fibrinlösenden und die diastatischen Fermente der Mikroorganismen. *Archiv für Hygiene.* 1890. Bd. X. S. 3.

[2] Bitter, Ueber die Fermentausscheidung des Koch'schen Vibrio der Cholera asiatica. *Ebenda.* 1886. Bd. V. S. 241.




Aufbewahren der Dosen bei 25° C. Feststellen der Prüfungsergebnisse durch Peptonwasser.

	a) Deckglas + Nadel		b) Deckglas + Oese	
	+	0	+	0
Vers. 4: Dose mit Chlorcalcium:	12h	24h	48h	72h
„ ohne „	24	32	36	48
„ 5: „ mit „	7	12	54	72
„ ohne „	32	36	36	48

Der Unterschied der Keimfähigkeit, den diese beiden Arten der Deckglasinficirung herbeiführten, war demnach erheblich, die Eintrocknung wirkte um so intensiver, je dünnere Culturmassen zum Auftragen gelangten. Wenn dieser Satz auch für nicht so weit differirende Culturschichten wie in den vorliegenden Versuchen gelten würde, so wäre damit eine gleichmässige Gestaltung weiterer Versuche sehr erschwert gewesen. Um diese Frage zu erledigen, wurde das Verhalten der durch zwei Arten der Auftragung minimaler Culturmengen angetrockneten Keime vergleichsweise geprüft: eine Portion Deckgläser wurde wie in Vers. 1 mittels kleiner Oese (I), eine andere wie in Vers. 4 mittels Nadel (II) mit dünnsten Culturschichten versehen. Alles Uebrige wie bei Vers. 4.

	I.		II.	
	+	0	+	0
Vers. 6: Dose mit Chlorcalcium:	15h	24h	12h	15h
„ ohne „	24	36	20	24
„ 7: „ mit „	17	20	15	20
„ ohne „	24	36	24	36

Wie man sieht, war ein erheblicher oder constanter Unterschied zwischen diesen beiden Arten der in engen Grenzen differirenden Arten der Vertheilung der auszutrocknenden Culturmengen nicht zu constatiren. Wir dürfen daher die minimalen Schichtenschwankungen, die sich auch bei vorsichtigstem Ausbreiten der Keimmenge nicht vermeiden lassen, als belanglos vernachlässigen.

3. Eintrocknen in gewöhnlicher Luft und im Exsiccator.

Wie aus einer vergleichenden Betrachtung der Lebensdauer in Dosen mit und ohne Chlorcalcium hervorgeht, waren in den Versuchen 4, 5, 6 und 7 die Exsiccatorzahlen immer dann niedriger, wenn die Culturschichten gleichmässig dünn waren, hingegen stieg die Resistenz der Keime im Exsiccator sofort in die Höhe und übertraf die nicht über Chlorcalium aufbewahrten Bacillen, wenn die Culturmengen compakter waren.

4. Einfluss der Temperatur auf das Austrocknen.

Um den Einfluss festzustellen, den im Verlaufe einer Austrocknung verschiedene Temperaturen auf das Keimleben ausüben könnten, bewahrte ich die mit 2 mg unausgebreiteter Cultur (20 h) beladenen Deckgläser in den Dosen bei 37°, 25° und 11° auf. Auf letzteren Grad sinkt die Lufttemperatur in der Dose herab und hält sich constant, wenn die durch Cerat wasserdicht abgeschlossene Dose unter permanentem Leitungswasserbade aufbewahrt wurde.

	37°		25°		11°	
	+	0	+	0	+	0
Vers. 8:	21h	24h	48h	54	77h	96h
„ 9:	24	28	38	48h	82	96
„ 10:	28	36	50	72	72	96

Das Gesetz von der conservirenden Wirkung trockener Kühle tritt auch hier mit aller Schärfe zu Tage, mit steigender Temperatur sinkt die Tenacität des Individuums; je näher das Temperaturoptimum liegt, um so rascher erliegen die Keime den Schädigungen des Trocknens.

5. Verhalten in ruhender und bewegter Luft.

Gelegentlich des Vergleiches zwischen den im Exsiccator und den in der Dose ohne Chlorcalcium deponirten keimbeladenen Deckgläschen liess sich als Ergebniss der Versuche feststellen, dass bei beiden Arten der Austrocknung eine Differenz der Widerstandsfähigkeit zu bemerkeu war, indem bei gleichmässig dünner Besäung die im Exsiccator befindlichen Keime rascher zu Grunde gingen. Dabei waren die Deckgläschen in einer ruhenden Luftschicht gewesen. Wie verhalten sich nun die Keime bei der Eintrocknung in der schwach bewegten Zimmerluft? — Es wurde eine Dose mit Platten und Deckgläschen (Nadelimpfung) beschickt und mit Glasdeckel versehen, eine Reihe anderer Deckgläschen kamen in Doppelschalen, die frei neben der Dose bei Zimmerluft (16 bis 22° C.) zur Aufstellung gelangten.

Agarcultur 20 h alt. Proben in Gelatine geprüft.

	Dose		frei	
	+	0	+	0
Vers. 11:	22h	26h	16h	22h
„ 12:	28	32	18	22

Der Einfluss der schwach bewegten Luft ist wohl erkennbar, die Keime unterliegen unter dieser Bedingung eher.



6. Einfluss des Alters der Cultur.

Um zu prüfen, ob das Alter der Ausgangscultur von Belang sei, wurden mittels der 2 mg fassenden Oese kleine Mengen von verschiedenaltrigen Agarculturen weggenommen und in den Exsiccator bei 25° C. gebracht.

	Material von 20h		von 40h alter Cultur	
	+	0	+	0
Vers. 13:	45h	54h	45h	50h
„ 14:	40	45	36	45

Die Exsiccatordosen bei 37° aufbewahrt:

	+	0	+	0
Vers. 15:	22h	30h	48h	54h
„ 16:	26	30	42	48

Ein Unterschied zwischen 20 und 40h alter Cultur bestand also nur insofern, als die letztere im Exsiccator bei 37° widerstandsfähiger war. Im Uebrigen dürfen wir annehmen, dass die 1 und 2 Tage alten Culturen dem Austrocknen gegenüber annähernd in gleicher Weise reagiren. Die Verhältnisse gestalten sich aber sofort anders, wenn man ältere Culturen benutzt.

Exsiccator bei 37°, alles Uebrige wie bei Vers. 13.

	20h		72h		5 Tage		7 Tage		8 Tage alte Cultur	
	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0
Vers. 17:	24h	30h	16h	24h	16h	20h	6h	12h	6h	12h
„ 18:	26	30	18	24	12	18	—		—	

Die Zahlen für die von älteren Agarsubstraten abgehobenen Keime blieben auch niedrig, wenn die quantitativen Verhältnisse dabei mehr berücksichtigt wurden. Wenn eine ältere Cultur nur Bruchtheile der Keime einer jüngeren besitzt, so konnte das negative Verhalten der älteren Culturen auch hier in ihrer Keimarmuth begründet sein. Es wurden daher eine grössere Anzahl von Deckgläschen geimpft und aller 2h je 6 davon aus dem Exsiccator (37°) in 6 Peptonwasserröhrchen gegeben.

7 Tage alte Cultur

Vers. 19: 4h + 6h + 8h 0 10h 0

Bei der Entnahme nach 6h waren 5 Röhrchen angegangen, eins blieb steril.

7. Einfluss der Virulenz der Cultur.

Weiterhin war ins Bereich der Untersuchungen die Frage zu ziehen, ob eine Cultur, die im Vollbesitze pathogener Eigenschaften war, sich gleichermassen wie eine avirulente alte Laboratoriumscultur verhalten würde.

Die sämmtlichen bisher angeführten Versuche waren mit einer Cultur angestellt, die ich der Güte des Hrn. Prof. Dr. R. Pfeiffer-Berlin verdanke. Die Cultur, deren Virulenz im Verlaufe der Versuche mehrmals auch bei anderen Gelegenheiten geprüft wurde, besass intraperitoneal einverleibt für Meerschweinchen von 300 bis 350 ^{gr} eine dosis minima letalis von ungefähr 0·8 ^{mg} 20stündiger Vegetation und hielt sich bei der häufigen Fortzüchtung auf dieser Höhe. Durch zweimalige Thierpassage schon war die Virulenz auf $^1/_{10}$ Oese (= 0·2 ^{mg}) zu steigern: mit dieser letzteren Virulenz kam die Cultur für den vorliegenden Versuch zur Verwendung. — Zum Vergleich wurde eine avirulente bezw. weniger virulente Choleracultur benutzt, von der bis zu 6 Oesen Meerschweinchen von etwa 300 ^{gr} ohne wahrnehmbare Schädigungen ertrugen.

Culturen 20^h. Nadelimpfung. Exsiccator bei 25°. Proben in Peptonwasser.

	virulent		avirulent	
	+	0	+	0
Vers. 20:	28^h	32^h	18^h	20^h
„ 21:	30	32	—	18

Die erhöhte Haltbarkeit hochvirulenter Cholerakeime beim Austrocknen geht aus diesen Versuchen deutlich hervor.

Betrachten wir nun die Ergebnisse etwas näher, so finden wir, dass für den Ausfall von Trocknungsversuchen eine Reihe verschiedener Factoren in Betracht und dann zum scharfen Ausdruck kommen, wenn einige Unbekannte bei den Versuchen dadurch eliminirt wurden, dass das Austrocknungsmaterial eine gleichmässige, von Nährboden fast freie Bakterienmasse war und wenn zum Fixiren die indifferente Deckglasfläche zur Verwendung kam.

Die Prüfung der Widerstandsfähigkeit muss so geschehen, dass die in ihren vitalen Eigenschaften geschwächten Mikroorganismen in dem dargebotenen Nährmedium optimale Verhältnisse vorfinden. Mit der blossen Feststellung der Abschwächungschwelle ist bei der Prüfung physikalischer und chemischer Einwirkungen nicht viel geholfen, wir wissen ja gar nicht, ob eine Keimart, wenn auch erst nach langen Generationen, sich erholen und die alten Fähigkeiten wieder erlangen kann. Es muss daher unser Augenmerk auf den Entscheid der Frage gerichtet sein, ob und zu welcher Zeit die Keime von der wirksamen Kraft dermassen influirt werden, dass sie auch unter den günstigsten Bedingungen die wichtigste Lebensäusserung, die Vermehrung, nicht mehr zu entfalten im Stande sind. Dass es für die inmitten eines eintrocknenden Culturklümpchens gelegenen, etwa noch überlebenden, aber geschwächten Bakterien ein Anderes ist, ob der ganze Brocken mit der bald erstarrenden Gelatine

übergossen wird oder ob man die Masse, ehe sie der Platte übergeben wird, verreibt, haben wir oben gesehen. Desgleichen wird das Befeuchten der auf dem Deckglas eingetrockneten Cultur mit einem Tröpfchen Bouillon und Constatiren des mikroskopischen Verhaltens nach bestimmter Zeit — welche Methode z. B. in den früheren Arbeiten über Austrocknung öfters gehandhabt wurde — einen Unterschied hinsichtlich des Resultates ergeben müssen gegenüber dem Uebertragen in Bouillon- oder Peptonwasserröhrchen, in denen man die sich gründlich durchfeuchtenden Theilchen auseinanderschüttelt und so die Stoffwechselproducte in weitgehendem Maasse verdünnt. Und mühelos lässt sich auch, wenn wir es nicht speciell beweisen, schon aus unserer Beobachtung ableiten, dass die im Innern eines Seidenfadens geborgenen Keime, um die herum die Wände der Fäserchen und vielleicht eingetrocknete Bouillonresttheilchen oder abgestorbene Keimmengen einen schützenden Wall bilden, nun nicht sofort ihr Vermehrungsgeschäft wieder aufzunehmen vermögen, wenn man den Faden mit Gelatine übergiesst oder, wie es in früheren Versuchen ebenfalls angegeben wird, auf eine trockene oder trocknende Agarfläche legt. Daraus folgt zugleich, dass auch die Dauer der Beobachtung wichtig sein wird, genau so wie das für Desinfectionsversuche längst constatirt ist. Wir selbst konnten bei den günstigen Verhältnissen, in die wir die Keime versetzten, einen Einfluss von dieser Seite nicht bemerken; wenn nach 48 bis 60^h weder im Peptonwasser noch in der Gelatine Wachsthum ersichtlich war, so blieben diese Medien steril, auch wenn die Musterung bis 14 Tage und länger fortgesetzt wurde.

Dass die Dicke der aufgetragenen Culturschicht eine Rolle spielt, auch wenn die trocknende Masse fast nur aus Keimen besteht, erhellt ebenfalls aus den angeführten Versuchen. Wie viel mehr wird dieser Umstand sich da Geltung verschaffen, wo gleichzeitig mit den Keimen Nährboden übertragen wird, wo nicht zunächst die Keime, sondern vielleicht die gelatinöse Masse vorerst zur Wasserabgabe gezwungen wird und durch Schrumpfen den innen befindlichen Keimen eine deckende Hülle bereitet.

Nicht minder einflussreich ist die Geschwindigkeit des Trocknens. Wenn einige Autoren fanden, dass das Eintrocknen im Exsiccator rasch zum Tode führt, während von anderen Beobachtern eine erhebliche Verzögerung des Absterbens unter diesen Bedingungen festgestellt wurde, so ist für dies verschiedene Verhalten die Erklärung durch obige Versuche leicht abzugeben. Die für das Eintrocknen im Exsiccator ermittelten Werthe waren niedriger, wenn die Schichten gleichmässig dünn ausgebreitet waren oder nur geringe Dickendifferenzen aufwiesen. Die Resistenz im Exsiccator war jedoch sofort eine höhere und übertraf diejenige der



in gewöhnlicher Luft aufbewahrten Keime, wenn eine grössere Bakterienmasse auf die Deckgläschen gegeben wurde. Es bildet sich eben dann auf einer solchen dickeren Lage eine mehr ausgetrocknete Haut, welche wie eine trockene Epidermisschicht das Abdunsten des Wassers aus der Tiefe in hohem Maasse verzögert.

Die austrocknende Fähigkeit einer Luft ist von der Temperatur abhängig und somit eine mit derselben variirende Grösse. Schon aus diesem Grunde wird je nach der Höhe der Temperatur sich ein differentes Verhalten der Keime offenbaren. Das geht auch aus den mitgetheilten Versuchen hervor. Inwieweit aber innerhalb dieser constatirten Thatsache der schnelleren oder langsameren Austrocknung eine Rolle zukam in Vergleich zu den anderen, mit dem Temperaturwechsel eintretenden biologischen Veränderungen, die für die Existenz der Bakterienzelle von Belang waren, mag hier nicht entschieden werden. Auch diese Abhängigkeit der Ergebnisse von der Temperaturhöhe ist in früheren Versuchen fast ganz vernachlässigt worden, erst bei den kürzlich erfolgten Ermittelungen über das Verhalten der Pestbacillen fand diese Frage eingehendere Berücksichtigung.

Dass es zum Erzielen gleichmässiger Bedingungen nöthig war, die Austrocknung in ruhender Luftschicht vorzunehmen, geht ebenfalls aus den Versuchen hervor. Bewegte Zimmerluft, die wie jeder Luftwechsel den Wasserdampf rasch hinwegführt, wird sich an verschiedenen Punkten desselben Raumes jeweilig verschieden verhalten und sich daher ungleich geltend machen müssen. Auch diesem Umstande ist in verschiedenen Versuchen von früher wenig Bedeutung beigemessen, wir sehen die Objecte bald in einem Schrank, bald unbedeckt, bald unter der Glasglocke mit oder ohne Lüftung aufbewahrt, bald fehlt jegliche Angabe darüber.

Dass das Alter der Cultur mit massgebend für den Endeffect ist, habe ich ebenfalls nachweisen können. Ich stelle mich damit in Gegensatz zu verschiedenen Autoren, die das Gegentheil fanden. Dass man diese Frage z. B. mit den üblichen Seidenfäden nicht entscheiden kann, erscheint mir nach meinen Erfahrungen wohl erklärlich.

Die Frage, ob virulente oder weniger virulente Cholerakeime bei Eintrocknung sich verschieden resistent zeigen, scheint noch nicht ventilirt worden zu sein. Berckholtz verglich zwar alte Laboratoriumsculturen mit einigen aus verschiedenen Epidemieen gezüchteten Stämmen, doch zog er die Virulenz hierbei nicht in Betracht. Nach dem von Smirnow[1] gelieferten Beweis, dass die Empfindlichkeit z. B. gegen Des-

[1] Smirnow, Ueber das Wesen der Abschwächung pathogener Bakterien. *Diese Zeitschrift.* 1888. Bd. IV. S. 231.



infectionsmittel sich proportional dem Grade der Abschwächung steigere, war ja auch bei der Schädigung durch Eintrocknen bei den weniger virulenten Keimen eine geringere Haltbarkeit zu erwarten, indessen, wie wir weiter unten sehen werden, braucht das Verhältniss zwischen Virulenz und Resistenz keineswegs immer so wie hier sich zu gestalten.

Wie aus den mitgetheilten Versuchen hervorgeht, kann schon die Verschiebung nur eines der in Betracht kommenden Momente unter strenger Beobachtung einheitlicher und gleichmässiger anderer Umstände beträchtlich differirende Endresultate zu Tage fördern, wie gross müssen dann erst diese Differenzen sich erweisen, wenn durch ungleiches Verhalten einiger Factoren oder durch die Combination derselben unberechenbare und unvergleichbare Bedingungen geschaffen werden. So sei erwähnt, welche Unsummen von Möglichkeiten dadurch geboten wird, dass man in Versuchen mit den Keimen zugleich verschiedenartige und verschieden grosse Mengen von Nährmaterial mit überträgt, dass man Lichtabschluss nicht oder nicht völlig herbeiführt oder dass man das auszutrocknende Material an mehr oder weniger differente Objecte fixirt.

Im Spiegel solcher Betrachtungen wird uns die Verschiedenartigkeit der Versuchsergebnisse erklärbar erscheinen, wir merken dann, dass die Natur auch hier keinen „Sprung“ gemacht, sondern dass sie bei gleichen Bedingungen gleichmässigen Schrittes geht.

Austrocknung und wechselnde Feuchtigkeit.

1. Cholera.

Es wurde oben constatirt, dass dünnste Keimschichten bei schwach bewegter Luft eher zu Grunde gingen. Wir versuchten das damit zu erklären, dass eine bewegte Luft rascher trocknend wirkt als die unbewegte Luftsäule der Dose, sowie man das Lufttrockenwerden eines zu färbenden Deckglaspräparates auch eher erreicht, wenn man dasselbe nicht ruhig liegen lässt, sondern durch Hin- und Herschwenken mit einer grösseren Menge von Luftmolecülen in Berührung bringt. Berckholtz wirft nun in der oben citirten Arbeit zur Erklärung derselben von ihm beobachteten Erscheinung die Frage auf, ob nicht die geringere Widerstandsfähigkeit im lufttrockenen Zustande vielmehr durch die in der äusseren Luft vorkommenden Feuchtigkeitsschwankungen bedingt seien. Die folgenden Versuche widmen sich dieser Frage. Es wurden eine Anzahl Deckgläschen einem Exsiccator übergeben, in dem sie bis zur Probeentnahme verblieben. Mit einer anderen Partie wurde ein zweiter Exsiccator beschickt, aus welchem die Platten nach Verlauf von 2^h in eine feuchte Kammer ge-

bracht, hier 2^h belassen, darnach wieder in den Exsiccator zurückgegeben wurden u. s. w.

Agarcultur 20^h. Nadelimpfung. Dosen bei 25°. Prüfung durch Peptonwasser.

	Nur Exsiccator		Wechselnde Feuchtigkeit	
	+	0	+	0
Vers. 22:	14^h	24^h	—	10^h
„ 23:	16	24	10^h	12

Die zwischen Extremen schwankende wechselnde Feuchtigkeit hatte demnach in der That einen nachtheiligen Einfluss ausgeübt.

Dies Verhalten der im Exsiccator befindlichen Keime bei Einwirkung erneuter Feuchtigkeit wurde nun auch bei anderen Keimarten untersucht, wobei gleichzeitig die Mikroorganismen in dem einen Exsiccator ganz der Eintrocknung überlassen wurden, damit nicht nur ein Vergleich mit den weiterhin befeuchteten, sondern auch mit den Ergebnissen früherer Austrocknungsversuche geschaffen würde. Die Befeuchtung geschah hierbei mittels Uebertragens einer kleinen Oese sterilisirten Leitungswassers.

2. Typhus.

Die Cultur, aus frischer Milz gezüchtet, besass die Virulenz von 0·5 bis 0·3 ^{mg} auf 1 Tag alter Agarplatte. Die Deckglasproben gelangten zur Prüfung der Keimfähigkeit in Bouillon, wenn diese anging, wurden zur Sicherstellung Platten gegossen.

Cultur 24^h. Nadelimpfung. Befeuchten bei Tage aller 3^h. Aufbewahrt bei 25°.

	Wechselnde Feuchtigkeit		Exsiccator	
	+	0	+	0
Vers. 24:	9^h	21^h	4 Tage	5 Tage

Vers. 25: Cultur 24^h. Impfen der Deckgläser mit kleiner Oese und gleichmässige Ausbreitung. Vers. 26: 14 Tage alte Cultur, Auftragen wie bei Vers. 25. Cultur noch lebenskräftig (1 kleine Oese = 8 bis 10000 Keime). Befeuchten aller 4^h.

	Wechselnde Feuchtigkeit		Exsiccator	
	+	0	+	0
Vers. 25:	3 Tage	3 Tage 10^h	9 Tage	10 Tage
„ 26:	4^h	8^h	2 „	3 „

3. Diphtherie.

Cultur aus frischem Fall gezüchtet, Virulenzprobe positiv.

Von 24^h alter Cultur auf Platte mit Löffler'schem Serum wurden mittels Oese wie oben dünnste Schichten auf Deckgläschen aufgetragen.



Befeuchtung: 2 Mal täglich. Prüfung: Uebertragen des ganzen Deckglases in Serumröhrchen, Vertheilen des Keimmateriales durch die im Presswasser angefeuchtete Oese.

	Wechselnde Feuchtigkeit		Exsiccator	
	+	0	+	0
Vers. 27:	5 Tage	6 Tage	14 Tage	15 Tage
„ 28:	6 „	7 „	16 „	19 „
„ 29, Cultur 5 Tage alt:	3 „	4 „	11 „	12 „

4. Pest.

Die Cultur hatte ich durch die Liebenswürdigkeit von Hrn. Geheimrath Flügge erhalten.

Versuchsanordnung wie bei Diphtherie.

Cultur auf Glycerinagar. Befeuchten 2 Mal täglich. Prüfung: Einführen des ganzen Deckglases in Bouillon, falls diese anging, Platten mit Gelatine gegossen.

	Wechselnde Feuchtigkeit		Exsiccator	
	+	0	+	0
Vers. 30, Cultur 24^h:	20^h	28^h	8 Tage	9 Tage
„ 31, „ „	24	36	9 „	11 „
„ 32, „ 36^h:	36	48	11 „	12 „

Die Versuche ergeben übereinstimmend, dass intensivem Trocknen ausgesetzte Keime, wenn sie aufs Neue eine Wasserzufuhr erfahren, erheblich rascher ihre Entwickelungsfähigkeit einbüssen, als wenn sie dem steten Austrocknen überlassen bleiben. Ich hatte das Umgekehrte erwartet und mir gedacht, dass eine neue Benetzung die Lebensthätigkeit günstig beeinflussen, dass das Plasma sich erholen würde, um dann um so kräftiger der Schädigung des Wasserverlustes sich zu wehren und wenigstens längeren Widerstand zu leisten, als die im Exsiccator belassenen Bakterien. Statt dessen sehen wir zumal bei Typhus- und Pestbacillen eine beträchtlich ungünstigere Beeinflussung durch die Wasserzugabe. Ob die letztere besondere osmotische Druckverhältnisse herbeiführt, vielleicht derart, dass die durch die voraufgehende Wasserentziehung in ein Stadium geringster Turgescenz oder in einen plasmolytischen Zustand versetzte Bakterienzelle bei plötzlicher Wasserdarbietung wieder anschwillt, die Zellwände aber diesem mächtigen Drucke nun nicht mehr gewachsen sind und bersten, wage ich, da mir durch directe Beobachtung gewonnene Beweise mangeln, nicht zu entscheiden. Wie aber auch die Erklärung dafür gefunden werden möge, dass das Plasma unter solchen Verhältnissen seiner vitalen Eigenschaften schon sehr früh beraubt wird, so darf das wohl mit Sicher-



heit vermuthet werden, dass für gewisse Arten von Mikroorganismen dieser Modus der Zellvernichtung, die aus dem Wechsel von Trocknung und Feuchtigkeit resultirt, ein in der Natur ungeheuer verbreiteter sein wird.

B. Verhalten von Cholerakeimen in der feuchten Kammer.

Bei einigen im vorigen Abschnitte angeführten Versuchen waren zum Vergleich mit den im Exsiccator eintrocknenden Culturmassen ebenso beladene Deckgläschen in eine zur feuchten Kammer umgewandelte Dose gegeben worden. Die Ergebnisse der Prüfung dieser so behandelten Keime seien hier angeführt, wobei zum Vergleich die schon unter Vers. 5, 6 und 7 gebrachten Zahlen daneben gestellt werden sollen.

Cultur 20^h. Nadelimpfung. Aufbewahren bei 25^0 C. Proben in Peptonwasser.

	Exsiccator		Feuchte Kammer	
	+	0	+	0
Vers. 33:	7^h	12^h	7^h	12^h
„ 34:	15	24	15	24
„ 35:	17	20	20	24
(Impfen mit kleiner Oese.)				

Es hatten sich demnach in der feuchten Kammer die Keime nur ebenso lange, in einem Falle sogar nicht so lange wie die im Exsiccator befindlichen entwickelungsfähig erhalten. Dieser sonderbare Befund war die Veranlassung, dem Verhalten der Keime in der feuchten Kammer weiter nachzuspüren.

1. Verhalten in der feuchten Kammer bei verschiedenen Temperaturen.

Von einem 20^h alten Plattenstrich (Agar) wurden mittels Oese kleine Mengen entnommen und auf Deckgläser gegeben, und zwar kam auf jedes Gläschen die gleiche Menge vom Inhalt dreier kleiner Oesen, so dass, wie durch Wägungen festgestellt wurde, die Gewichtsmenge etwa 5^{mg} Cultur betrug. Die so beladenen Gläschen wurden sofort in Schalen und diese in die als feuchte Kammer dienenden Dosen gegeben, von denen die einen auf Eis, die anderen bei 11^0, 25^0 und 37^0 C. aufbewahrt wurden. Die Prüfung der Lebensfähigkeit geschah durch Uebertragen kleiner Mengen des Culturhäufchens mittels Oese in Peptonwasser. Wenn das letztere nach 24 bis 36^h steril blieb, wurde alsbald zur Sicherstellung des Resultates das ganze Deckglas in Peptonwasser übertragen oder in Gelatineröhrchen gebracht und Platte gegossen. Der positive Ausfall des Pepton-



wassers wurde zumeist durch Gelatineplatten controlirt, bei grösseren Versuchsreihen begnügte ich mich mit Anfertigen eines hängenden Tropfens, dessen schnell bewegliche Vibrionen bei dem eigenartigen Geruch des angegangenen Peptonwassers nur Choleravibrionen sein konnten.

		Dose α 0° C. +	Dose α 0° C. 0	Dose β 11° C. +	Dose β 11° C. 0
	Vers. 36:	42 Tage	47 Tage	37 Tage	42 Tage
	„ 37:	39 „	42 „	29 „	33 „
Cultur 48ʰ	„ 38:	57 „	—	64 „	—
Cultur 48ʰ	„ 39:	71 „	—	72 „	—

		Dose γ 25° C. +	Dose γ 25° C. 0	Dose δ 37° C. +	Dose δ 37° C. 0
	Vers. 36:	7 Tage	10 Tage	30ʰ	36ʰ
	„ 37:	9 „	12 „	27	48
Cultur 48ʰ	„ 38:	72 „	—	50	3 Tage
Cultur 48ʰ	„ 39:	122 „	—	3 Tage	4 „

Die Versuche 38 und 39 sind zum Theil unvollständig, indem die Endresultate nur theilweise bestimmt werden konnten: die Deckgläschen gingen schliesslich zur Neige, da die Versuche sich lange hinausdehnten, was nicht erwartet wurde.

Die eingehendere Besprechung der eben mitgetheilten Ergebnisse soll später erfolgen. Was zunächst bei einer Vergleichung derselben in die Augen springt, ist die ganz ausgesprochene Abhängigkeit der Resistenz vom Alter der Cultur. Diesem Umstande wurden weiterhin zahlreiche Versuche gewidmet.

2. Verhalten der Keime verschiedenaltriger Culturen in der feuchten Kammer.

In den nachfolgenden Versuchen wurden die Keime in der feuchten Kammer nur bei 37° beobachtet, da, wie aus obigen Versuchen ersichtlich ist, die Lebensdauer bei dieser Temperatur eine viel kürzere als bei niedrigeren Temperaturen ist und in Folge dessen zahlreichere Controlversuche angestellt werden konnten. Da es in hohem Grade umständlich gewesen wäre, wenn für jede der zahlreichen Probeentnahmen ein Deckglas hätte hergestellt werden sollen, so wurde reichliche Cultursubstanz aufgetragen, um die Prüfung mittels Abhebens kleiner Mengen durch Oese vornehmen zu können. Wie schon oben erwähnt, erhielten die Deckgläschen immer annähernd 5 ^{mg} Bakterienmasse.



Die Berichte über die Versuche mit verschiedenaltrigen Choleraculturen sollen zunächst summarisch gegeben werden. Es sind diesen Tabellen sämmtliche Versuche eingereiht, die mit den Culturen von dem betreffenden Alter überhaupt zur Ausführung kamen, gleichgültig zu welchem Zweck und mit welcher Variation. Aus diesem Grunde sind in den Ergebnissen Schwankungen bemerkbar, die jedoch die Beantwortung der hier gestellten Frage in keiner Weise beeinträchtigen.

Tabellen der Haltbarkeit der von verschiedenaltrigen Culturen abgehobenen Cholerakeime in der feuchten Kammer.

Tabelle VII.

Alter d. Cultur:	24^h		48^h		3 Tage		5 Tage	
	+	0	+	0	+	0	+	0
	32^h	36^h	3 Tg.	4 Tg.	8 Tage	9 Tage	9 Tage	10 Tg.
	26	34	$5\frac{1}{2}$ „	6 „	12 „	14 „	15 „	19 „
	30	48	50^h	3 „	11 „	14 „	14 „	19 „
	27	35	58^h	60^h	13 „	15 „	Versuche 66—68	
	16	28	54^h	3 Tg.	8 „	9 „		
	18	24	6 Tg.	7 „	Versuche 61—65			
	30	36	7 „	8 „				
	27	32	Versuche 54—60					
	22	28						
	21	28						
	22	24						
	24	30						
	42	60						
	Versuche 41—53							

Versuche mit Keimen noch älterer Culturen ergaben folgende Haltbarkeitswerthe:

Tabelle VIII.

Nr. des Versuches	Alter der Cultur in Tagen	+	0
69	7	50 Tage	nicht ermittelt
70	8	49 „	„
71	8	52 „	„
72	11	32 „	„
73	12	38 „	„
74	16	34 „	„
75	17	32 „	„
76	21	50 „	„
77	21	50 „	„
78	21	50 „	„

Aus äusseren Gründen konnte leider in den Versuchen 69 bis 78 die Lebensdauer der Keime nicht bestimmt werden, die angeführten Zahlen bedeuten also noch keineswegs die obere Grenze.

Fassen wir die gefundenen Zahlen in Mittelwerthen zusammen, so ergiebt sich, dass das Absterben der Keime in der feuchten Kammer,

wenn	die	Cultur	$20-24^h$	alt	war,	zwischen	26	und	35^h	erfolgte,
,,	,,	,,	48^h	,,	,,	,,	4	,,	5 Tagen	,,
,,	,,	,,	72^h	,,	,,	,,	10	,,	12 ,,	,,
,,	,,	,,	5 Tage	,,	,,	,,	13	,,	16 ,,	,,

Mit Hinblick auf die nicht erheblichen, aber doch deutlichen Differenzen einzelner in den Tabellen mitgetheilter Beobachtungen, wurde in der Folge geprüft, ob man auch hier unter Innehaltung ganz gleichmässiger Versuchsbedingungen nur geringen Schwankungen unterworfene Werthe erhalten würde. Es wurden gleichzeitig 8 Platten mit derselben Agarmenge beschickt und auf dieselbe Art besät. Nach 1, 2, 3 und 8 Tagen wurden von denselben je 2 Oesen auf je ein Deckglas gegeben. Die Deckgläschen wurden in der feuchten Kammer bei 37° aufbewahrt. Die Ergebnisse dieser Versuche, die schon oben mit angeführt sind, sollen vergleichsweise hier neben einander gestellt werden.

Alter der Cultur							
24^h		48^h		72^h		8 Tage	
+	0	+	0	+	0	+	0
30^h	36^h	50^h	3 Tage	11 Tage	14 Tage	49 Tage	
27	32	58	60^h	13 ,,	15 ,,	52 ,,	

Die Werthe stimmen also gut überein.

3. Einfluss der Menge des Nährbodens.

Es wurde fernerhin untersucht, wie sich die auf verschieden dicken Agarschichten gewachsenen Keime in der feuchten Kammer verhalten würden.

Zu diesem Zweck wurden in je 2 Schalen von 2^{cm} Höhe und $7 \cdot 5^{cm}$ Durchmesser je 5^{ccm} verflüssigten Agars, in 2 andere je 40^{ccm} desselben Nährsubstrates gegeben so dassdie ersteren mit einer etwa $1\frac{1}{2}^{mm}$, die andere mit einer 12^{mm}dicken Agarschicht versehen waren. Von diesen mit Cholera geimpften Platten wurden nach 24^h, 3, 5, 10 und 21 Tagen mit je 2 Oesen Deckgläschen beschickt und in die feuchte Kammer bei 37° gegeben.



	Alter der Cultur	auf dünner		auf dicker Agarschicht	
		+	0	+	0
Vers. 79:	24^h	16^h	18^h	18^h	26^h
	3 Tage	23	30	8 Tage	9 Tage
	5 „	$4^1/_2$ Tage	5 Tage	10 „	11 „
	10 „	12 „	14 „	15 „	19 „
	21 „	50 „	—	50 „	—

Ehe wir uns der Besprechung der Resultate zuwenden, soll noch die Beantwortung der Frage in Angriff genommen werden, wie lange sich die von jungen und älteren Culturen abgehobenen Spaltpilze in der feuchten Kammer nach Zugabe von kleinsten Mengen Nährsubstanz widerstandsfähig zeigen würden.

4. Verhalten der Keime bei Zugabe kleinster Nährstoffmengen.

3 Oesen Cultur wurden in sterilisirte Uhrschälchen gebracht und zu der Bakterienmasse ein 0·06 ccm messender Tropfen steriler Bouillon zugegeben. Die Uhrschälchen kamen in Platten und feuchte Kammern bei 37°. Zum Vergleich wurden die gleichen Mengen Cultur in Uhrschälchen ohne Bouillonzusatz beobachtet.

	Alter der Cultur	Mit Bouillon		Ohne Bouillon	
		+	0	+	0
Vers. 80:	24^h	$6^3/_4$ Tage	8 Tage	46^h	54^h
	24	4 „	7 „	36	40
	72	60 „	—	8 Tage	9 Tage
	6 Tage	140 „	—	46 „	—
	12 „	140 „	—	38 „	—

Gehen wir nun an der Hand der Versuchsergebnisse auf das Verhalten der von ihrem Nährsubstrate losgelösten Cholerakeime in der feuchten Kammer etwas näher ein.

Dass die in dünnsten Schichten zur Auftragung gelangten Culturtheilchen (Vers. 33 bis 35) in der feuchten Atmosphäre ebenso rasch und noch eher zu Grunde gingen wie im Exsiccator, findet wohl eine einfache Erklärung darin, dass durch die beim Beschicken des Deckgläschens erfolgende Eintrocknung schon ein schwächendes Moment herbeigeführt wird, so dass dann, ähnlich wie bei dem oben erörterten Verhalten in wechselnder Feuchtigkeit, durch die feuchte Luft eher eine Schädigung herbeigeführt wird. Auffallender Weise jedoch verlängerte sich die Lebensdauer in gar nicht bedeutendem Maasse, als anstatt der dünnsten Schichten 3 Oesen Cultursubstanz, die während der Zeit des Uebertragens vollständig feucht blieb, in der feuchten Kammer sich selbst überlassen wurden. Die

Versuche (36 bis 39), die das feststellten, geben zugleich einen wichtigen Einblick in die inneren Verhältnisse in einem solchen Bakterienhäufchen. Wenn dasselbe bei einer im Uebrigen gleichen Behandlungsweise vier verschiedenen Temperaturen übergeben wurde, so konnte eine ganz weitgehende Divergenz der Conservirung der Lebensdauer constatirt werden. Während beispielsweise in dem einen Falle schon nach 30 bis 36^h langem Verweilen des vor Trocknung geschützten Keimmateriales bei 37° dasselbe lebensfähige Individuen nicht mehr enthielt, war bei 25° eine 7 Mal längere (7 bis 10 Tage), bei 0° eine 30 Mal längere (42 bis 47 Tage) Andauer des Entwickelungsvermögens wahrzunehmen. Dieses ganz und gar von der Temperatur abhängige Verhalten, das in paralleler Weise auch bei den der 48^h alten Cultur entnommenen Mikroben (Vers. 38, 39) im Anfange sich geltend macht, findet nur seine Erklärung in der durch die verschiedene Temperatur geschaffene Verschiedenartigkeit der biologischen Verhältnisse. Und die ganze Rolle, welche die Temperatur für den Lebensprocess der Mikroorganismen spielt, wie wird sie klar gekennzeichnet, wenn wir sehen, dass unsere Keime gerade bei den dem Optimum nächstliegenden Wärmegraden, bei welchen sie sonst sich im Vollbesitze ihrer Leistungsfähigkeit befanden, rapid zu Grunde gehen und im Gegensatz dazu bei den Temperaturen, die nachgewiesenermassen jede höhere Leistung der Zelle zu unterdrücken vermögen, eine ausserordentliche Haltbarkeit bewiesen. Das lehrt uns doch, dass die Temperatur nur ein Anstoss, ein Reiz ist. Und wo die Reizbarkeit des Plasmas, wie bei niederer Temperatur, aufgehoben oder vermindert ist, wird das Leben sistirt: es tritt gewissermassen eine Kältestarre ein, in welchem Zustande bei Erhaltung des Lebens eine intensivere Ausübung vitaler Functionen unterbleibt und das Plasma in einen trägeren, stabilen Ruhezustand übergeht. Im Gegensatz hierzu wirkt für die bei höherer und optimaler Temperatur belassenen Keime die letztere als formaler Reiz: so lange noch Spuren von Nährmaterial zur Verfügung stehen, so lange dauert unter dem Einflusse dieses Reizes die productive vitale Thätigkeit der lebenden Substanz ungestört fort. Diese hatte sich bisher auf der Agarfläche als zweckmässig erwiesen, die neuen Verhältnisse ändern an dieser Thätigkeit nichts, der Temperaturreiz dauert fort, deshalb verarbeitet die Zelle, vor Trocknung geschützt, in der alten Weise fürs Erste das noch vom Agar bezogene und mitgeführte Nährmaterial weiter. Doch bald sind die von früher her disponiblen Energiequellen erschöpft, die Zelle versäumte bei ihrer nur auf die Vermehrung gerichteten Thätigkeit plastische Stoffe zu speichern, sie hungert und consumirt ihre eigene Leibessubstanz — andererseits aber wurden bei dem lebhaften Stoffwechsel Zersetzungsproducte in reicher Menge geliefert. Diese stauen sich nothwendig an und müssen



dem Plasma zum Verderben gereichen, sei es, dass sie das Leben desselben activ vernichten, sei es, was wahrscheinlicher ist, dass sie ein Weiterleben zur Unmöglichkeit machen durch Verhinderung der zur Existenz unbedingt nothwendigen Ausscheidung von neuen Spaltungsproducten, genau so wie die mit Stoffwechselresten beladene Körperzelle urämisch erstickt.

Wie schon aus der vergleichenden Betrachtung der zum Zweck des entscheidenden Einflusses der Temperatur angestellten und ebenso aus den dieser Frage besonders gewidmeten Versuchen hervorgeht, ist für die Haltbarkeit der von dem Nährsubstrat abgelösten Keime in der mit Feuchtigkeit gesättigten Atmosphäre, in ähnlicher Weise wie die Temperatur, das Alter der verwendeten Cultur von ausschlaggebender Bedeutung. So finden wir, dass die bei 37° gehaltenen, der 24stündigen Agarplatte entnommenen Keime nach 30 bis 32^h, die der 48^h alten nach 50 bis 60^h, die der 72^h alten nach 11 bis 14 Tagen und die der 8 Tage alten noch nach 50 Tagen lebensfähig waren, ohne dass damit im letzteren Falle die obere Grenze der Resistenz erreicht gewesen wäre. Diese Thatsachen werfen ein Licht auf die biologischen Verhältnisse, wie sie für die in verschiedenaltrigen Culturen vorhandenen Mikroorganismen obwalten.

Dass die auf 20 bis 24^h alten Agarflächen gewachsenen Cholerakeime auf dem Gipfel ihrer Leistungsfähigkeit und damit auf der Höhe der Resistenz stehen, ist eine überall anzutreffende Anschauung, mit zunehmendem Alter soll dann die Zelle an Widerstandskraft verlieren. Dieser Erfahrung scheinen obige Versuche zu widersprechen, denn gerade die den älteren Culturen entnommenen Spaltpilze bewahrten das Keimvermögen unter den gegebenen Bedingungen am längsten, während die jungen Keime von der vermeintlichen höheren Resistenz binnen Kurzem zu Grunde gingen.

Die 2 Tage alte Cultur verhält sich, wie die Versuche zeigen, schon wesentlich anders wie die 24stündige. Die erstere enthält, wie Gotschlich und Weigang in der oben citirten Arbeit feststellten, nur noch 12 Procent der in der 20 Stunden alten vorhandenen Keime: dieses rapide Zugrundegehen erklären die genannten Autoren mit der Erschöpfung des Nährbodens, die eine Folge der unter den günstigen Temperaturverhältnissen erfolgten maximalen Entfaltung der Lebensäusserungen unserer Keime ist. In der That musste auch oben dem eintretenden Hunger die Hauptrolle beigemessen werden, der dort bei der mit Abhebung vom Nährboden erfolgten Nahrungsentziehung, noch viel eher eintreten musste und eine Dissimilation der noch lebenden Plasmasubstanz zur Folge haben konnte. Ich möchte aber auch die Bedeutung der Stoffwechselproducte — welches Wort freilich oft zum Schlagwort geworden ist — ausdrücklich hervorheben und für die hohe Haltbarkeit, die wir mit steigendem Alter der



Cultur wahrnehmen konnten, die Summe zweier Factoren verantwortlich machen: Die Anpassung an den eintretenden Nahrungsmangel, sowie an die Anhäufung und das Concentrirterwerden der Stoffwechselproducte. Durch das Abheben der Keime vom Nährsubstrat und bei dem weiter gebotenen Schutz vor Vertrocknung kommen zunächst keine verändernden Momente in Betracht. Wie auf der Agarcultur nach ca. 20^h schon die Wachsthumscurve steil abfällt, so dürfen wir uns nicht wundern, dass in der abgehobenen Keimmasse erst recht eine explosive Vernichtung eintritt, die im Gegensatz zu dem auf dem Nährboden erfolgenden Zugrundegehen eine vollständige ist. Die Agarsubstanz bietet trotz der vorangegangenen starken Inanspruchnahme noch Nährmaterial in reichlicher Menge. Man kann sich davon überzeugen, wenn man z. B. mit einer nichtverflüssigenden Keimart Gelatineplatten giesst, auf welchen nur etwa 50 Colonieen zur Entwickelung kommen. Nach bestimmter Zeit werden diese Colonieen nicht weiter wachsen, obwohl noch grosse Mengen unangetasteter Gelatine zur Verfügung stehen. Es bilden sich concentrisch um die einzelnen Colonieen herum Diffusionszonen, innerhalb deren die specifische Art nicht weiter gedeihen kann: ein Wachsthum erfolgt nur so lange, als bis die Diffusionszonen sich bis zu einem gewissen Grade nähern oder ineinandergreifen. Fertigt man ferner Agarplattenstriche z. B. mit Cholera an, so dass auf jeder Agarfläche in der Mitte ein Culturstreifen entstand, so merkt man, dass nach einigen Tagen der Belag nicht weiter in die Breite wächst. Impft man nun mit frischem Material Striche senkrecht zu der gewachsenen mehrtägigen Cultur und zwar vom vorhandenen Culturstrich beginnend nach auswärts, so ist bald zu beobachten, dass der senkrecht angelegte Strich in Keulenform wächst mit dem sich zuspitzenden Ende nach dem alten Strich zugewendet. Das Wachsthum unterblieb auch sehr nahe am älteren Strich nicht vollständig, zum Zeichen, dass wohl noch Nährmaterial vorhanden war; mit der Entfernung von dem alten Culturbelag, mit dem Herausrücken aus dem Diffusionsbereiche der Zersetzungsstoffe verbreitert sich die neu gewachsene Culturmasse.

Schon auf Grund dieser Beobachtungen möchte ich nicht nur die Erschöpfung des Nährbodens, sondern in ähnlichem Maasse auch die mit gesteigertem Stoffwechsel zur Zeit reichlicher Nahrung sich bildenden Producte in Erwägung ziehen.

Mit dem Alter der Cultur nimmt nun die Keimzahl erheblich ab: am 3. Tag enthielt eine Agarflächencultur von Cholera nach den Untersuchungen von Gotschlich und Weigang im Mittel nur noch 2·76 Procent, in einer anderen Versuchsreihe sogar nur 0·8 Procent der Keimzahl der 20stündigen Cultur. Die überlebenden Keime wirthschaften also nicht in der vorangegangenen Weise weiter, der Vermehrungsthätigkeit sind die



angedeuteten Schranken gesetzt. In der Cubikeinheit finden sich jetzt relativ nur wenige Keime, die Concurrenz ist gering und wenn die Zelle mit dem immerhin noch beträchtlichen Nährmaterial, das vielleicht durch den Zerfall todter Zellleiber noch eine Vermehrung erfährt, öconomisch umgeht, ist ihr eine längere Lebensdauer oder Vermehrung ermöglicht. Dieser Uebergang in die neue Gleichgewichtslage geschieht aber nicht plötzlich, jede Gewöhnung braucht Zeit: die Keimmasse der 48^h alten Cultur (Vers. 38, 39) giebt daher in die feuchte Kammer gebracht zwar einen Ausschlag, aber er ist nicht erheblich und nicht so constant wie bei noch älteren Vegetationen: erst diese beherbergen Keime, welche an den Nahrungsmangel gewöhnt und in bedeutendem Grade gegen ihre eigenen Producte und gegen die ihrer lebenden und todten Vegetationsgenossen immunisirt sind. Denn eine Immunität gegenüber den eigenen Giften ist es doch, die uns die auffallende Thatsache erklärt, dass einerseits die jungen Keime der Schädigung rasch unterlagen, die Keime älterer Culturen andererseits, vor Trocknung geschützt und des Nährsubstrates beraubt, zum mindesten 52 Tage bei 37^0 entwickelungsfähig blieben. Es ist doch vielmehr ein acutes Vergiftungsphänomen und nicht nur das Bild eines Hungerzustandes, dass die 20^h alte Agarröhrencultur bietet, wenn, wie Gotschlich und Weigang einmal nachwiesen, in derselben binnen 4^h die Individuenzahl um 10000 Millionen abnahm. Erst die Keime, die dieses Stadium überdauern, sind für die weitere Giftgewöhnung befähigt. Wodurch diese Stoffwechsel- oder Culturimmunität erreicht wird, lässt sich bei der unzureichenden Kenntniss der Plasmasubstanz nicht beweisen. Es wird auch hier eine Summe von ineinandergreifenden Momenten der Zelle der älteren Cultur zu dieser Fähigkeit verhelfen.

Die Frage der entscheidenden Rolle, welche das Nährmaterial für die Haltbarkeit der Keime in der feuchten Kammer spielt, wurde durch weitere, oben mitgetheilte Versuche beleuchtet. Wenn den von jungen und alten Culturen abgehobenen Keimen sofort nach Uebertragen in ein Uhrschälchen und in die feuchte Kammer ein Tröpfchen Bouillon zugegeben wurde, so musste auf's Neue eine Keimvermehrung eintreten, da nun Nährstoffe wieder geboten und die Stoffwechselproducte verdünnt wurden. Auch hier ist der Lebensthätigkeit der von der jungen Cultur entnommenen Keime viel eher ein Ziel gesetzt (Vers. 80), das Nährmaterial wird von den jungen, sich schnell theilenden Zellen rasch consumirt, und wieder wird dann die hungernde Zelle sich der plötzlich und reichlich entstandenen Ausscheidungsproducte nicht erwehren können. Die von den älteren Culturen als Aussaat benutzten Keime hingegen scheinen auch auf ihre Nachkommen die Fähigkeit, dem concentrirten Medium Stand



zu halten, übertragen zu können, es waren noch nach 70 Mal so langer Zeit in den mit dem Bouillontropfen versehenen älteren Culturmassen lebende Individuen anzutreffen. Selbstverständlich würde das Resultat ganz anders ausgefallen sein, hätten wir mehr Bouillon hinzugefügt. Dann würde, wie wir es ja an unseren Bouillonröhrchen immer beobachten, auch bei den mit junger Aussaat beschickten Uhrschälchen mit der Zeit Culturimmunität eingetreten sein. Auf jeden Fall aber lehrt unsere Betrachtung, dass Cultur und Cultur, selbst wenn sie gleichen Alters sind, nicht dasselbe ist, sondern dass wir unter Umständen weiter zurückgreifen müssen, wollen wir für bestimmte Fälle vergleichbares Material haben.

Einen weiteren Beitrag für den Einfluss von Nährmaterial auf die Widerstandsfähigkeit in unserem Sinne bieten die unter Vers. 79 zusammengefassten Untersuchungen, in denen Keime von dünnster und von dicker Agarschicht der feuchten Kammer übergeben wurden. In beiden Beobachtungsreihen führen die Curven der Haltbarkeit, welche die Keime der beiden Platten mit zunehmendem Alter erfahren, zu demselben Ziele, d. h. die der alten Cultur entstammenden Mikroben erhalten ihr Entwickelungsvermögen bei Schutz vor Trocknung gleich lange Zeit, gleichviel ob sie auf dünner oder dicker Schicht gewachsen waren. Die Keime der 1 Tag alten Culturen sind ebenfalls von annähernd derselben Lebensdauer: in dieser kurzen Zeit konnte ja ein schädlicher Einfluss der dünnen Schicht noch nicht zur Geltung kommen, wie ja auch Gotschlich und Weigang bei Prüfung des Verhaltens von Cholerakeimen auf Agarflächen bei jungen Culturen keinen Unterschied der Keimzahl im dünnen oberen oder dicken unteren Theil des schräg erstarrten Agars finden konnten. In der Folge aber gestaltet sich der Anstieg der Culturwiderstandsfähigkeit verschieden: auf der dünnen Agarschicht bleibt die Keimfähigkeit in der feuchten Kammer zunächst nur kurze Zeit erhalten, sie steigt ganz allmählich an, um dann schliesslich derjenigen der auf der dicken Schicht vegetirten Keime nahe zu kommen, die ihrerseits schon in den ersten Tagen energisch zu beträchtlicher Höhe sich erhoben hatte. Die Bakterien der letzteren Cultur erreichen sehr bald schon diesen höheren Grad der Haltbarkeit in Folge eines glücklichen Zusammenwirkens einer reichen Kostmenge und der Möglichkeit, dass die Stoffwechselproducte durch Diffusion weit forttransportirt werden können. In der mageren Schicht jedoch führen die Individuen zunächst einen harten Kampf, die Schädigungen überwiegen für's Erste zu sehr, als dass die Gegenreaction einen grösseren Effect erzielen könnte. Nur nach den Seiten hin und wenig in die Tiefe sind die Zersetzungsstoffe hinwegzuschaffen, der Boden ist übersättigt und die kümmerlich ernährten Zellen, die in der That in

dieser Zeit nur geringe Resistenz offenbaren, würden der Vernichtung anheimfallen, wenn sie nicht im Laufe der Zeit durch zweckmässige Veränderungen einen den neuen Verhältnissen entsprechenden Gleichgewichtszustand erreichen würden, an welchem sie, wie wir sehen, schliesslich ebenso zäh festhalten, wie die unter weitaus günstigeren Ernährungsverhältnissen gewachsenen Keime der dicken Schicht.

Einige Beobachtungen antagonistischer und mutualistischer Art sollen hier noch angefügt werden. Bei dem häufigen Eröffnen der feuchten Kammern war es unvermeidlich, dass sich Luftkeime auf einigen Bakterienhäufchen deponirten. Die so inficirten Deckgläschen wurden selbstverständlich aus den Versuchen ausgeschaltet, gleichwohl aber weiter beobachtet. Da liessen sich beispielsweise Keime finden, welche die 5 mg Cholerabakterienmasse binnen Kurzem zu einem ebenso grossen Häufchen von Keimen der eigenen Art verarbeiteten, jede Spur von Choleravibrionen vernichtend, andererseits gab es eine Keimart, die in friedlichem Nebeneinander 42 Tage lang mit den Cholerakeimen zusammenlebte, ohne dass die eine Art die Oberhand gewann. Ein anderes Deckglas bot die Beobachtung dar, dass es 2 Mal durch verschiedene Luftkokken verunreinigt war; als dann später wieder untersucht wurde, waren Cholerabacillen in Reincultur vorhanden. Auffallend war es auch, dass die verunreinigenden Keime viel mehr die bei 0 und 11° gehaltene Cholerabacillenmasse vor der bei höheren Temperaturen gehaltenen bevorzugten.

Ich schliesse hiermit die Betrachtung über das Verhalten der von Agarculturen abgehobenen Cholerakeime in der feuchten Kammer. Es ist klar, dass diese Methode noch eine Reihe weiterer biologischer Beobachtungen an den in verschiedenen Wachsthumsphasen befindlichen Keimen unter Variiren der Verhältnisse ermöglichen würde. Die Anpassung an die Stoffwechselproducte der eigenen Art können schon deshalb auf diese Weise so sicher verfolgt werden, weil dieselben dabei an Ort und Stelle liegen bleiben, weil die Trocknung verhütet und die weitere complicirende Einwirkung des Nährbodens abgeschnitten ist. Zugleich aber ist diese Handhabung der Keimtödtung, wie sie z. B. bei 20h alter Choleracultur rasch eintritt, so gelinde wie nur möglich, so dass ohne die unberechenbaren Stoffumwälzungen herbeiführende Anwendung von Hitze und chemischen Mitteln die todte Plasmasubstanz und die ausgeschiedenen Stoffe unverändert zur Verfügung stehen.

C. Versuche über die Widerstandsfähigkeit von Keimen beim Erwärmen.

Die oben mitgetheilten Ergebnisse über die den Keimen älterer Choleraculturen innewohnende erhebliche Haltbarkeit in der feuchten Kammer legten den Gedanken nahe, dass es sich hier um eine Dauerformbildung handeln könnte, die ja bei Cholerabacillen oft genug vermuthet worden ist. Dabei mussten vor Allem die älteren Culturen berücksichtigt werden. Schon bei den Antrocknungsversuchen konnte festgestellt werden, dass sich die Keime der älteren Culturen keineswegs durch höhere Resistenz auszeichneten. Es wurden nun nochmals Versuche in dieser Richtung angestellt, wobei gleichzeitig von denselben Platten Culturmassen in die feuchte Kammer und auf's Deckglas behufs Trocknung zur Aussaat gelangten, immer zeigten sich die Keime der älteren Vegetation von der früher festgestellten grossen Labilität.

Gleichzeitig wurden Erwärmungsversuche in Angriff genommen, um zu prüfen, ob die Keime der älteren Culturen dabei eine höhere Tenacität documentiren würden. Hier stellten sich erhebliche Schwierigkeiten zur Erzielung gleichmässiger Resultate auch bei ein und derselben Cultur in den Weg. So fanden sich die einer 24stündigen Choleracultur entnommenen Keime bei Erwärmung auf 45° C. in 12 Versuchen von einer Lebensdauer, die im einen Falle schon nach 7′, im extremen nach 60′ noch nicht erloschen war. Dabei war schon eine Reihe von Fehlerquellen, die sich, wie aus den Arbeiten verschiedener Autoren ersichtlich war, bei Erwärmungsversuchen leicht einstellen, in Berücksichtigung gezogen worden. So wurde das mit den Keimen zu impfende flüssige Medium auf die Versuchstemperatur vorgewärmt und dann erst die Inficirung vorgenommen, damit die ungleiche Periode des Steigens der Temperatur bis zum gewünschten Grade nicht Differenzen bedingen sollte. Die Aufschwemmungsflüssigkeit befand sich dabei in Reagensröhren, diese standen in kleinem Drahtgestell, das in einen mit Wasser gefüllten Blechtopf eingesenkt wurde. Dieser Topf wiederum befand sich innerhalb eines zweiten Blechgefässes, das selbst wieder ein Wasserbad darstellte. Mit Hülfe dieses doppelten Wasserbades und eines in das erstere eingebrachten Thermoregulators war es möglich, eine ganz constante Temperatur des inficirten Mediums zu erhalten, wie die Beobachtung eines Thermometers zeigte, welches in ein mit Wattestopfen versehenes Reagensglas mit der gleichen Menge nicht inficirter Flüssigkeit eintauchte. Zur Unterstützung dieser Constanterhaltung wurde das äussere Wasserbad durch Rühren mit einer Gänsefeder, das innere durch leichtes Heben und Senken des die



Gläschen tragenden Gestelles in Bewegung gesetzt. Trotz dieser Vorsichtsmassregeln dauerten die Resultatschwankungen fort.

Ueber die Vorsicht, die man bei Erwärmungsversuchen walten lassen muss, wenn man vergleichbare Werthe erhalten will, machen Forster und van Geuns[1] äusserst zutreffende Bemerkungen. So macht Forster[2] darauf aufmerksam, dass z. B. in den Versuchen von Kitasato, der ein verschiedenes Verhalten der Cholerabacillen gegen Temperaturen von 50° oder 60° im Anfange nicht nachweisen konnte, Differenzen in einigen Fällen dadurch herbeigeführt sein konnten, dass derselbe bei nicht ganz gleichmässiger Vertheilung der in flüssiger Gelatine suspendirten Agar- oder Kartoffelculturtheilchen möglicher Weise mit Bakterienklümpchen gearbeitet haben wird und diese die Temperatur des umgebenden Wasserbades in ungleicher Weise annehmen mussten. van Geuns erklärt öfters erhaltene Schwankungen unter Anderen dadurch, dass nach Einführen des Platindrahtes in die erwärmte inficirte Flüssigkeit durch stärkere Bewegung desselben leicht Keime verspritzt werden und an die oberen, nicht so warmen Röhrchentheilchen gelangen konnten, wo sie lebensfähig bleiben und dann gelegentlich wieder in das erwärmte Medium zurück oder bei weiterer Entnahme von Proben mit dieser übertragen und das Resultat trüben konnten. Um dies Anstossen an die kühlere Wandung des schmalen Reagensröhrchens zu vermeiden, benutzte ich weite Reagensgläser von 2·5 cm Durchmesser zur Aufnahme der zu erwärmenden Bakterienaufschwemmung. Die Entnahme der Proben erfolgte durch zwei an langem Platindraht durch Aufrollen hergestellte Spiralen, die annähernd eine Flüssigkeitsmenge von 0·055 ccm fassten. Es wurden zwei Spiralen benutzt, um bei vergleichenden Versuchen eine gleichzeitige Prüfung zweier Proben vornehmen zu können. Die Spiralen eigneten sich auch dazu, vor der Entnahme die erwärmte Flüssigkeit leicht umzurühren.

Im Folgenden sollen zunächst Versuche wiedergegeben werden, die den Einfluss der Dichte der zu erwärmenden Bakteriensuspension in Verbindung mit der Beschaffenheit der Aufschwemmungsflüssigkeit demonstriren. Es erschien nöthig, diese Vorfragen zu beantworten, ehe weitere Untersuchungen in Angriff zu nehmen waren.

1. Einfluss der Dichte der Aufschwemmung.

Von einer 8 Tage bei 37° gehaltenen Agarplatte von Cholera wurden in Tropfglas mit 25 Tropfen (= 1·75 ccm) steriler 0·6 procent. Kochsalz-

[1] van Geuns, Ueber das Pasteurisiren von Bakterien. Ein Beitrag zur Biologie der Mikroorganismen. *Archiv für Hygiene.* 1889. Bd. IX. S. 369.

[2] Forster, Nachschrift zu vorstehender Arbeit. *Ebenda.* Bd. IX. S. 403.



lösung 10 Oesen Cultur (avirulent) aufgeschwemmt und durchgeschüttelt. In zwei Reagensgläsern waren inzwischen in dem einen („*a*") 2 ccm, in dem anderen („*b*") 1·5 ccm Kochsalzlösung vorgewärmt worden. Von der Choleraaufschwemmung wurden nun in *a* 5 Tropfen (= 0·35 ccm), in *b* 15 Tropfen (= 1·05 ccm) gegeben, so dass in *a* (= „verdünnt) 17·5 Procent, in *b* (= „concentrirt") 70 Procent der ursprünglichen Suspension enthalten war. Die Temperatur wurde auf 45° C. constant erhalten. Entnahme mittels Spirale und Ueberführen in Peptonwasser.

				verdünnt	concentrirt
Vers. 81:	Proben	nach	5′	+	+
	„	„	10′	0	+
	„	„	15′	0	+
	„	„	20′	0	+
	„	„	30′	0	+
	„	„	45′	0	+

Um der Differenz vorzubeugen, die durch die ungleich schnelle Erwärmung der zur vorgewärmten Entnahmeflüssigkeit gegebenen ungleich grossen Mengen der ursprünglichen Aufschwemmung entstehen konnte, wurde auch diese Keimsuspension in vorgewärmtem, 25 Tropfen enthaltenden Tropfglase vorgenommen und einem Abkühlen während des Durchschüttelns durch Halten im 45° warmem Wasserbade begegnet. Der Versuch, bei welchem dieselben Mengenverhältnisse wie in Vers. 81 zur Anwendung kamen, ergab Folgendes:

				verdünnt	concentrirt
Vers. 82:	Proben	nach	6′	0	+
	„	„	12′	0	+
	„	„	20′	0	+
	„	„	30′	0	+
	„	„	45′	0	+

Dieselben Versuche wurden mit geringem Wechsel der Dichte der Keimaufschwemmungen wiederholt und besonders auch darauf Rücksicht genommen, dass aus der verdünnteren Bakteriensuspension grössere Mengen, nämlich drei bis fünf Spiralen, auf einmal zur Aussaat in die Peptonröhrchen gegeben wurden, immer war in dieser Verdünnung allenfalls nach 5′ noch ein positives Resultat zu beobachten, nach 6 oder 10′ hingegen war die Keimfähigkeit erloschen. In der dichten Aufschwemmung war jedoch sogar bis 1h 35′ bei 45° bei Benutzung einer neuntägigen Ausgangscultur ausgesprochene Entwickelungsfähigkeit vorhanden. Dasselbe Verhalten zeigten die von 1 Tag alten Agarplatten zum Erwärmen gebrachten Keime.



Vers. 83. In 20 Tropfen ($1 \cdot 45^{ccm}$) auf $45 \cdot 5^0$ vorgewärmter $0 \cdot 6$ procent. Kochsalzlösung wurden 15 Oesen Cultur vertheilt. Von der Suspension erhielten die 20 Tropfen Kochsalzlösung enthaltenden, vorgewärmten Reagensgläser im Wasserbad bei $45 \cdot 5$ bis 46^0 C. drei Tropfen (= „verdünnt") und zwölf Tropfen (= „concentrirt"). Das Resultat war, dass in der Verdünnung schon nach 15′, in der concentrirten Aufschwemmung erst nach 1^h 40′ lebensfähige Keime nicht mehr angetroffen wurden.

Worin dieser destruirende Einfluss der erwärmten keimärmeren Lösung in einfacher Weise eine Erklärung findet, wird weiter unten erörtert werden. Hier genügt es, noch darauf hinzuweisen, dass man durch Variiren der Concentration nach oben und unten alle Uebergänge von grösserer zu geringerer Haltbarkeit von Cholerakeimen beim Erwärmen hätte constatiren können. In gleichem Maasse werden denn auch in der Hand verschiedener Autoren, die die gleiche und ähnliche Methode verwendeten, je nach Zugabe grösserer oder kleinerer Keimmengen die Resultate verschiedenen Ausgang genommen haben.

2. Einfluss des Aufschwemmungsmediums.

Der allgemein gültige Satz, dass ein lebendes Wesen eine Schädigung um so leichter erträgt und überwindet, je günstiger für dasselbe zur Zeit der Wirksamkeit der Insulte die allgemeinen Lebensbedingungen sind, hat sich in der Bakteriologie nur allmählich Bahn gebrochen. Wenn man z. B. frühere Desinfectionsversuche durchmustert, so wird man oft genug dieses einfache biologische Gesetz vernachlässigt sehen. Aber es konnte der Aufmerksamkeit der Beobachter nicht entgehen, dass es etwas Anderes ist, ob man ein Desinfectionsmittel auf die Mikroorganismen in Wasser oder in Bouillon und eiweissreichen Flüssigkeiten einwirken lässt. Für die Erwärmungsversuche ist in vielen früheren Arbeiten auf die Beschaffenheit des Mediums, in welchem die Keime der Wärmewirkung ausgesetzt werden, ebenfalls keine Rücksicht genommen worden.

In Vers. 83 wurde nebenbei gleichzeitig das Verhalten von Cholerakeimen in Kochsalzlösung im Vergleich zu dem der in Bouillon suspendirten beim Erwärmen geprüft. Es wurde neben der Aufschwemmung von 10 Oesen Cultur in Kochsalzlösung eine zweite Aufschwemmung der gleichen Anzahl Oesen in derselben Menge Bouillon hergestellt. Ebenso wurden im Warmwasserbad Röhrchen mit derselben Bouillonquantität, wie die daneben befindlichen Kochsalzgläschen, vorgewärmt und dann mit der gleichen Tropfenanzahl der Bouillonsuspension versehen, wie sie die Nachbargläschen mit der Kochsalzaufschwemmung erhielten.



Versuch 84.

	Verdünnte Kochsalz	Verdünnte Bouillon	Concentrirte Keimsuspension Kochsalz	Concentrirte Keimsuspension Bouillon
Proben nach 8′	+	+	+	+
,, ,, 15′	0	+	+	+
,, ,, 20′	0	+	+	+
,, ,, 30′	0	+	+	+
,, ,, 40′	0	+	+	+
,, ,, 60′	0	+	+	+
,, ,, 1h 20′	0	+	+	+
,, ,, 1h 40′	0	+	0	+
,, ,, 2h	0	0	0	0

Controlversuch.

Proben nach 8′	+	+	+	+
,, ,, 15′	+	+	+	+
,, ,, 20′	0	+	+	+
,, ,, 40′	0	+	+	+
,, ,, 60′	0	+	+	+
,, ,, 1h 20′	0	+	+	+
,, ,, 1h 40′	0	+	0	+
,, ,, 2h	0	0	0	0

Mit aller Deutlichkeit bestätigen diese Ergebnisse den oben angeführten Satz, sie sprechen die Forderung aus, auch bei der Prüfung der Widerstandsfähigkeit einer Keimart gegen Erhitzen diesem Einfluss des Mediums, in welchem die Bakterien sich befinden, volle Beachtung zu schenken. Mit dem Festlegen dieser Thatsachen, der Bedeutung der Beschaffenheit der aufschwemmenden Flüssigkeit, sowie der Dichte der Besäung derselben, scheint die Wirkung der Temperatur in einen eigenthümlichen Parallelismus zu derjenigen der Desinfectionsmittel gerückt, die ja auch auf keimärmere, wässerige Suspension intensiver wirken als auf eine stark keimhaltige und eiweissreiche. Ein Versuch zur Erklärung dieses gleichen Endeffectes zweier so grundverschiedener Actionen soll später folgen. Uns liegt jetzt nur daran, darauf hinzuweisen, dass ebenso wie bei Desinfectionsversuchen auch hier in diesen beiden Momenten die recht häufige Differenz der Ergebnisse zahlreicher früherer Beobachtungen über die Haltbarkeit beim Erwärmen ihren Grund haben dürfte.

Unter Beachtung der gewonnenen Erfahrungen wurde nun erst die Frage geprüft, ob die Keime der älteren Choleracultur dem Erwärmen einen grösseren Widerstand entgegensetzen würden. Die Ergebnisse zahl-



reicher Versuche, deren eintöniges Protocoll nicht wiedergegeben werden mag, verneinen diese Frage. In einzelnen Fällen besassen jüngeren und älteren Culturen entnommene Keime eine gleiche Resistenz beim Erwärmen, in der überwiegenden Mehrzahl war eine etwas längere Lebensdauer der jüngeren Vegetation zu constatiren. Auch das Verhalten der in die feuchte Kammer gegebenen Cholerakeime älterer Culturen beim Erwärmen wurde untersucht und in Vergleich gebracht mit solchen, die direct von der älteren Platte abgehoben und erwärmt wurden. So waren bei einer Einwirkung einer Temperatur von 46° die von der 12 Tage alten Cultur abgehobenen und in Bouillon vertheilten Mikroorganismen nach 35′ noch lebensfähig, während die der ebenso alten Platte entnommenen und 14 Tage lang in der feuchten Kammer belassenen schon nach 20′ vernichtet waren.

Bei einer Prüfung, wie sich virulente und avirulente Cholerakeime gegen Erwärmen verhalten würden, war zu constatiren, dass in der oben „concentrirt" genannten Bouillonaufschwemmung die virulenten 20^h alten Culturen entlehnten Keime 2^h, die avirulenten 1^h 40′ der Schädigung der Temperatur von 46° widerstanden. Auch bei früheren Versuchen, in denen noch die Aufschwemmung mit Kochsalzlösung gehandhabt worden war, erwies sich die Resistenz der virulenten Cultur in demselben Sinne als grösser.

Dass in gleicher Weise wie für Choleravibrionen bei Suspension der Keime in Kochsalzlösung die Quantität der aufgeschwemmten Cultur für die Erwärmung von Typhus-, Diphtherie-, Pestbacillen und von Staphylococcus pyogenes aureus ausschlaggebend für das Endresultat ist, wurde ebenfalls durch Versuche erhärtet, die auszugsweise hier angeführt werden sollen. Dieselben Untersuchungen dienten zugleich der Beantwortung der Frage, ob bei diesen Keimen auf den älteren Culturen hitzebeständigere Individuen als auf den jüngeren sich finden lassen würden.

Aufschwemmung: Fünfzehn Oesen Cultur (bei Typhus und Staphylococcus neutraler, bei Pest Glycerin-Agar, bei Diphtherie Löffler'sches Serum) in vorgewärmter 0·6 procentiger Kochsalzlösung (1·5 ccm) davon 0·21 ccm in 2 ccm vorgewärmter Kochsalzlösung (= „verdünnte") und 1·05 ccm in 1·5 ccm Kochsalzlösung (= „concentrirte Aufschwemmung"). Die Prüfung der entnommenen Proben auf Keimfähigkeit geschah in der bei den Austrocknungsversuchen gehandhabten Weise.

Die Resultatschwankungen bei verschiedener Keimaussaat unter Benutzung der Kochsalzlösung als Aufschwemmungsflüssigkeit treten auch hier deutlich hervor. Auch ist eine grössere Haltbarkeit der den älteren Culturen entstammenden Keime nirgends zu erkennen.



Tabelle IX.

Keimart	Alter der Cultur in Tagen	Erwärmungsgrad Grad C	Concentrirte Aufschwemmung +	Concentrirte Aufschwemmung 0	Verdünnte Aufschwemmung +	Verdünnte Aufschwemmung 0
Typhus	1	52	2^{h} —′	2^{h} 30′	$—^{h}$ 50′	1^{h} —′
„	7	52	1 30	1 45	— 40	— 50
Diphtherie	1	51	4^{h} —′	—	—	—
„	1	51	4 50	—	1^{h} 30′	1^{h} 45′
„	10	51	2 30	3^{h} —′	—	—
„	14	51	2 —	2 30	$—^{h}$ 50	1 —
Pest	1	50	1^{h} 45′	—	$—^{h}$ 10′	— 20′
„	5	50	— 50	1^{h} —′	—	—
„	18	50	— 20	— 30	—	—
Staphylococc.	1	53	2^{h} 50′	—	—	—
pyog. aureus	1	52	4 —	—	2^{h} 15′	2^{h} 30′
	9	53	2 --	2^{h} 20′	—	—

Nachdem so die Austrocknungs- und Erhitzungsversuche mit den auf älteren Vegetationen befindlichen Keimen ebenso wie anderen Beobachtern, die dieselbe Frage in anderem Zusammenhange untersuchten, bewiesen haben, dass eine gesteigerte Resistenz gegenüber den genannten Einflüssen nicht wahrnehmbar ist, wurde noch auf andere Weise versucht, die etwaige Tenacität festzustellen, nämlich durch Ueberführen in Wasser. Da diese Versuche das Ausgangsmaterial für weitere Fragen bildeten, sollen sie erst im nächsten Abschnitte mitgetheilt werden. Hier sei vorausgeschickt, dass auch im Wasser die Keime der älteren Nährsubstrate die Widerstandsfähigkeit derjenigen der jüngeren Cultur keinesfalls überragten. Um eine Dauerform der Cholerabacillen, die, wie wir sahen, vom Nährsubstrat losgelöst in der feuchten Kammer eine mit dem Alter der Cultur sich steigernde Lebensfähigkeit bewahrten, kann es sich also auf den älteren Culturen nicht handeln, wenigstens nicht um eine Sporenbildung, die ja nach den üblichen Forderungen den Nachweis erhöhter Resistenz gegen Trocknen und Siedehitze zur Bedingung macht. Einer solchen Sporenbildung, die für eine Reihe pathogener Mikroorganismen neuerdings namentlich von botanischer Seite geradezu gefordert und als sicher vorhanden angenommen wird, bedarf es aber gar nicht einmal zur Erklärung verschiedener epidemiologischer Thatsachen, wenn wir uns der Erkenntniss nicht verschliessen, dass auch die vegetative Form eines Keimes unter Umständen sich in hohem Maasse an schädigende Insulte gewöhnen kann und so die Art zu erhalten ausgerüstet und bestrebt ist.

D. Verhalten von Cholerakeimen in Wasser und einfachsten wässerigen Lösungen.

Bei der grossen Verbreitung und Bedeutung des Wassers in der Natur, sowie bei der reichlichen Verwendung, die dasselbe im menschlichen Haushalte findet, wird es immer von hohem Interesse erscheinen, das Verhalten von Krankheitserregern im Wasser zum Gegenstand der Untersuchung zu machen und nach verschiedenen Richtungen hin zu beleuchten. So werden wir nicht nur darnach fragen müssen, unter welchen Bedingungen sich im Wasser die pathogenen Mikroorganismen vermehren werden, sondern es wird gleichermassen der Erörterung werth sein müssen, ob sich dieselben im Wasser zu conserviren vermögen, um dann im geeigneten Moment, in günstige Bedingungen gebracht, ihre verderbliche Wirkung zu entfalten, oder endlich wir werden unser Augenmerk darauf zu richten haben, unter welchen Umständen ein Wasser die Keime zum Absterben bringt.

In den folgenden Versuchen wurde ausschliesslich mit Choleravibrionen gearbeitet, vor Allem deshalb, weil dieselben als äusserst empfindliche Keime Schädigung oder Begünstigung rasch anzeigen und daher die gefundenen Werthe immer bald durch Controlversuche sicher gestellt oder durch weitere Fragestellung einer möglichst eindeutigen Erklärung entgegengeführt werden konnten. Ausserdem ist ja gerade über das Verhalten der Erreger der Cholera im Wasser bei dem hohen praktischen Interesse, das diese Frage bietet, eine solche umfangreiche Litteratur zusammengekommen, dass schon bei einer vergleichenden Betrachtung dieser Publicationen eine Reihe von Versuchsfehlerquellen und Differenzen hervortraten, die weiter zu verfolgen von Interesse schien.

Bevor die Mittheilung von Untersuchungen erfolgen soll, erscheint es nothwendig, auf eine Reihe von Momenten näher einzugehen, die für den Ausfall der Versuche von Bedeutung sein mussten.

Ueber quantitative Keimbestimmung.

In einer früheren, unter Prof. Hofmann's Leitung entstandenen, Arbeit[1] habe ich ausführlicher über Fehlerquellen bei quantitativen Keimbestimmungen unter experimenteller Begründung berichtet. Daselbst ist auch die auf Veranlassung von Prof. Hofmann verwendete Methode der Feststellung von Keimmengen mittels Tropfgläser eingehend besprochen

[1] Ueber Wachsthumsgeschwindigkeit des Bacterium coli commune auf Platten. *Dissertation.* Leipzig 1893.



und die hohe Exactheit derselben durch zahlreiche Vergleiche mit anderen Verfahren erwiesen worden. Dieselbe hat sich auf's Neue bei allen folgenden Versuchen bewährt, ohne dieselbe hätten diese bei der zur Nothwendigkeit gewordenen Häufigkeit der Probeentnahme kaum ausgeführt werden können. Die übliche Abmessung mittels Pipetten konnte schon deshalb für die Mehrzahl der Versuche nicht in Frage kommen, weil bei jeder erneuten Prüfung des zu untersuchenden keimhaltigen Wassers das Lüften eines Verschlusses veranlasst worden und damit die nicht zu vermeidende Möglichkeit einer Luftinfection gegeben gewesen wäre. — Die Tropfgläser, von denen für die vorliegenden Versuche etwa achtzig zur Verwendung kamen, sind signirt, die Tropfenconstanten tabellarisch zusammengestellt, was im Verein mit den für das Plattenmikroskop berechneten Constanten wesentlich zur Erleichterung der zahlreichen Berechnungen beitrug.

Vorbemerkungen über Glas und oligodynamische Wirksamkeit.

Der Einfluss, den die Wandung von Glasgefässen auf keimhaltige Medien ausüben könnte, ist in der Bakteriologie wenig oder gar nicht untersucht oder berücksichtigt worden.

In der Chemie ist es schon Lavoisier gewesen, der das Auflösen kleiner Mengen der Gefässsubstanz bei Kochen von Wasser in Glas und Porzellan constatirte. Aber erst in der neueren Zeit haben genauere quantitative und qualitative Untersuchungen darüber stattgefunden, die in ihren Einzelheiten noch nicht abgeschlossen, doch schon mit aller Schärfe zum Ausdruck bringen, dass alle feineren Messungen der analytischen Chemie diese Glaswirkung keinesfalls vernachlässigen dürfen.

Berücksichtigen wir zunächst nur einmal die Alkalimengen, die ein Glasgefäss dem in demselben befindlichen Wasser mitzutheilen vermag, so finden wir darüber exacte Feststellungen in den Arbeiten von Mylius und Foerster,[1] die im Auftrage der Physikalisch-technischen Reichsanstalt die Frage der Beurtheilung von Glasgefässen zu chemischem Gebrauche in Angriff nahmen.

Die Autoren verschafften sich die allerverschiedensten Glassorten in Kolben- und Flaschenform und bestimmten mit einer besonders ausgearbeiteten Methode die Löslichkeit bezw. Angreifbarkeit des Glases in der Weise, dass sie die in Wasser während bestimmter Zeit sich lösenden

[1] Mylius und Förster, Ueber die Beurtheilung von Glasgefässen zu chemischem Gebrauche. Die Einwirkung von Wasser auf Glas. *Zeitschrift für analytische Chemie*. 1892. Bd. XXXI. S. 241. — Förster, Vergleichende Prüfung einiger Glassorten hinsichtlich ihres chemischen Verhaltens. *Ebenda*. 1894. Bd. XXXIII. S. 381.



Alkalimengen mit Hülfe von Jod-Eosin und Aether als Indicator durch Titration noch 0·1 mg Na_2O in 100 ccm Wasser und kolorimetrisch noch kleinere Mengen feststellten. Das für die Versuche nothwendige neutrale Wasser war durch Destillation in Platingefässen gewonnen. Die Summe der in dem Wasser nach Berührung mit Glas gefundenen Mengen der alkalischen Bestandtheile (Natron, Kali, Kalk) wurde, durch die äquivalente Menge Na ausgedrückt, zu der Oberfläche des untersuchten Gefässes in Beziehung gebracht. Die ermittelten Zahlen bedeuten dann die Menge des von 100 qcm Oberfläche in Lösung übergegangenen Alkalis ausgedrückt in Tausendstel Milligrammen Natron. Bei verschiedenen im Handel als gut bezeichneten Sorten lieferten die Kolben beispielsweise, wenn sie 24 h lang mit Wasser von etwa 20° in Berührung waren, Alkalimengen in der Höhe von 5 bis 435. Die Angreifbarkeit sinkt dann mit der Digestionsdauer rasch: sie ist beim frisch bezogenen Glas am höchsten und wird in den folgenden Tagen bedeutend niedriger, ohne jedoch zu verschwinden. In viel stärkerem Maasse zeigt sich das Glas angreifbar bei höherer Temperatur, so schwanken die für die verschiedenen Sorten nach obigen Grundsätzen ermittelten Alkalimengen, die sich während 1 h in Wasser von 80° lösten, zwischen 18 und 1213. Bei den Versuchen mit heissem Wasser geht die Menge der in der Zeiteinheit gelösten Alkalibestandtheile nach mässig raschem Abfall in eine constante Grösse über. Diese Constanz bildet sich bei schlechteren Sorten erst spät heraus, wohl deshalb, weil durch die concentrirtere Alkalilösung Kieselsäure in Lösung kommt und damit neue Angriffspunkte zur Alkalilösung gegeben werden.

Diese Andeutungen aus den genannten Arbeiten mögen genügen, es zu rechtfertigen, wenn wir bei feineren Untersuchungen über das biologische Verhalten von Keimen z. B. in einer gegebenen Lösung, sei es, dass die Veränderung der Lösung durch den Lebensprocess der Bakterien, oder dass die Beeinflussung der vitalen Eigenschaften der Keime durch das dargebotene Medium exact verfolgt werden soll, die Veränderung der die Keime enthaltenden Flüssigkeit durch die Glaswand in Erwägung ziehen müssen. Und das um so mehr, als wir bei derartigen Versuchen alle für die Lösung der Alkalibestandtheile günstigen Bedingungen schaffen: die Keimsuspension bleibt dann nicht nur tage- und wochenlang mit der Glaswand in Contact, sondern, was an und für sich schon mit wochenlanger Berührung nach den obigen Versuchen gleichbedeutend ist, das in dem Glase befindliche Medium wird vor der Impfung zumeist 2 h lang im Dampfsterilisator Hitzegraden ausgesetzt, die nachweislich der Zersetzung des Glases in hohem Grade Vorschub leisten. Wir bekommen hierdurch sowohl wie durch das weitere Aufbewahren eine Alkalimenge, die so gering sie auch bei nur kurzer Einwirkung des Glases erscheint,



bei der Constanz des Processes durch fortwährende Summation sich zu einer beträchtlicheren Grösse steigern muss. — Um diese durch Einwirkung des Glases sich ergebenden Fehlerquellen zu vermeiden oder wenigstens herabzudrücken, habe ich bei den folgenden Versuchen theilweise des Jenaer Glases mich bedient, das nach den Untersuchungen der Physikalisch-technischen Reichsanstalt eine hochgesteigerte Widerstandsfähigkeit gegen chemische Agentien besitzt und das beste böhmische Glas in der Resistenz gegen Wasser von 20° um das 4- bis 5fache, gegen Wasser von 80° um das 11- bis 12fache übertrifft. Die Alkaliabgabe desselben an Wasser von 20° betrug während 8 Tage 3·0 (in $^{mg}/1000$ Na_2O), dieser Werth stieg bei einer darauf folgenden 3^h langen Berührung mit Wasser von 80° auf 5·15. — Da wir nun in den Choleravibrionen Keime vor uns haben, die schon die Anwesenheit kleinster Alkalimengen mit erhöhter Leistungsfähigkeit beantworten, so schienen sie besonders dazu geeignet, uns Aufschluss zu ertheilen über die Einwirkung von Jenaer Glas einerseits und andererseits von gewöhnlichem Glase auf Wasser und wässerige Lösungen bekannter Constitution. Durch eine Reihe mitzutheilender Versuche tritt denn auch ein Unterschied hierbei deutlich zu Tage, wobei die Beobachtung werthvoll erscheint, dass unsere Keime vermöge ihrer hohen Empfindlichkeit so rasch und sicher in dieser Frage eine Antwort ertheilten, wie es auch das feinste chemische Reagens kaum besser zu thun vermöchte. — Es sei nochmals hervorgehoben, dass für eine Anzahl subtiler mikrobiologischer Fragen, für Stoffumsatzbestimmungen bei Keimen, für die Frage der Entbehrlichkeit dieses oder jenen Elementes u. s. w. man der Berücksichtigung dieser Beeinflussung sich nicht wird entziehen können, wenn man nicht, wie es vielleicht schon geschehen sein dürfte, Täuschungen anheimfallen will.

Bekanntlich ist es von Nägeli gewesen, der den Einfluss minimaler Mengen löslicher Stoffe auf lebende Zellen in eingehendster Weise verfolgte. Die Resultate dieser Untersuchungen finden wir niedergelegt in der Arbeit „Ueber oligodynamische Erscheinungen in lebenden Zellen".[1] Sie wurde unter den nachgelassenen Papieren des berühmten Gelehrten gefunden und von S. Schwendener der Oeffentlichkeit übergeben. Durch Letzteren erfahren wir auch, dass v. Nägeli, der seit Beginn der achtziger Jahre mit dem Gegenstand sich beschäftigte, durch diese Untersuchungen zur Annahme einer neuen Kraft, der „Isagität", geführt worden sei. Das Wort „isagisch" hat dann v. Nägeli durch „oligodynamisch" ersetzt. Es sei mir gestattet, bei dieser höchst interessanten

[1] *Neue Denkschriften der allgemeinen schweizerischen Gesellschaft für die gesammten Naturwissenschaften.* 1893. Bd. XXXIII. Abth. I.

Schrift v. Nägeli's, die dem Mediciner weniger bekannt sein dürfte, etwas länger zu verweilen, wobei ich weniger das pathologisch-anatomische Bild der geprüften Zellveränderung berücksichtigen, als vielmehr das hervorheben möchte, was sich, wenigstens theoretisch, ebenso gut in die Biologie der Bakterien übertragen liesse, — dass wir dazu aber für viele Fälle in der That ein Recht haben, werden die angestellten Versuche zeigen.

v. Nägeli wollte die von Löw und Bokorny aufgestellte Behauptung, dass Silbernitratlösungen durch lebendes, nicht aber durch todtes Protoplasma reducirt würden, nachprüfen. Er benutzte zu diesen Versuchen, wie die genannten Autoren, Süsswasseralgen und besonders die Spirogyren, grüne Fadenalgen. v. Nägeli fand die obigen Beobachtungen bestätig bemerkte aber gleichzeitig bei einer weitgehenden Verdünnung der Lösun dass dann beim Absterben ganz andersartige Veränderungen sichtba wurden als bei der gewöhnlichen Art des Absterbens. Die Frscheinungen der letzteren Art nahmen mit zunehmender Verdünnung ab, die andersartigen, ungewöhnlichen Veränderungen aber, die der Hauptsache nach in der Lostrennung der Spiralbänder vom Plasmaschlauche bestanden, ein Vorgang, der bei der chemisch giftigen Wirkung nie eintrat, steigerten sich dabei, sie blieben bei fortschreitender Abnahme des Giftes, selbst bis zum Verschwinden desselben, ungeschwächt. Diese Wirkungen bezeichnet v. Nägeli als oligodynamische im Gegensatz zu den specifisch chemischen Wirkungen des Giftes. Als er Sublimatverdünnungen herstellte, fand er bei 1:1000000 die chemisch-giftige Wirkung nicht mehr, es zeigte sich dann die oligodynamische, die bei einer bis auf das Septillionfache getriebenen Verdünnung noch vorhanden war. Da die Wirkung mit der Verdünnung nicht verschwand, so konnte sie nicht durch eine Kraft herbeigeführt sein, die von dem Gift auf's Wasser übergegangen war. Es konnte also nur das Wasser oder das Glas die Schuld tragen. Als er nur destillirtes Wasser prüfte, starben die Spirogyren darin in kurzer Zeit, zuweilen in weniger als 4′. Brunnenwasser verhielt sich häufig ebenso. Um zu prüfen, woher diese verderbliche Wirkung des destillirten und des im gewöhnlichen Leben als rein bezeichneten Wassers stamme, dachte v. Nägeli zunächst an chemische Ursachen. Aber weder CO_2, NH_3, O_3, HNO_3 oder H_2SO_4 konnten bei näherer Prüfung als Ursache erkannt werden, vielmehr zeigte sich, dass Metalle dem Wasser oligodynamische Eigenschaften ertheilten, z. B. Kupfer, Silber, Blei, Zinn u. s. w. Vor Allem bediente er sich gut gereinigter Kupfermünzen, um Wasser oligodynamisch zu machen. Wurden dann unlösliche Körper, z. B. Graphit, Rus, Filterpapier, Baumwolle, Paraffin, Stearinsäure in das Wasser gegeben, so wurden die oligodynamischen Erscheinungen vermindert oder aufgehoben. Dieselbe Wirkung wie Filterpapier u. s. w. hatte die Zugabe neuer Algen

zellen: die Spirogyren vermochten den schädlichen oligodynamischen Wirkungen um so eher zu widerstehen, in je grösseren Quantitäten sie im Wasser vorhanden waren. Micellarlösliche Verbindungen, wie Gummi, Dextrin, Leim, besassen ebenfalls neutralisirende Eigenschaften. Dass sich Glas sehr ungleich verhielt, erklärt v. Nägeli damit, dass die Nachwirkung eines früher mit dem Glase in Berührung gewesenen Stoffes sich geltend machen könne: legte er beispielsweise mehrere Goldkronen in ein Glas mit Wasser und nahm er dieselben nach einigen Tagen heraus, so zeigte sich, dass das Glas nach Ausgiessen des Wassers und gutem Ausspülen oligodynamische Eigenschaften angenommen hatte. Kupfer hinterlässt eine Nachwirkung, die selbst nach 3- bis 4maliger weiterer Verwendung des Glases zu Culturzwecken noch, wenn auch schwach, vorhanden ist. Da es v. Nägeli nach all' den Erfahrungen unmöglich erschien, dass die oligodynamische Wirkung von einer gelösten Verbindung herrühren könnte, so wendete er sein Augenmerk auf imponderable Ursachen. Aber weder der Wärme noch der Lichtwirkung war die Rolle eines selbstständigen Factors beizumessen, die erstere beeinflusste nur insofern die oligodynamische Wirksamkeit, als bei Erhöhung der Temperatur und der Annäherung an das Vegetationsoptimum rascheres Abtödten eintrat. Auch die Versuche über die Elektricität als Ursache der räthselhaften Erscheinungen führten zu negativem Resultate. In der Folgezeit war v. Nägeli der Ueberzeugung, ein neues, unbekanntes Agens müsse die Wirkung veranlassen, und er sprach sich in gleichem Sinne in einem Vortrag der Königl. Bayer. Akademie der Wissenschaften aus. Später nahm er die Untersuchungen wieder auf und fand zunächst, dass reines Gold und Platin dem Wasser keine oligodynamischen Eigenschaften ertheilten: die früheren Resultate, nach denen Platin doch oligodynamische Eigenschaften abgegeben hatte, erklärt er jetzt durch Nachwirkung von den Culturgefässen her. Diese Nachwirkung vermochte er durch Reinigen mit Salz- oder Salpetersäure oder auch durch langes Kochen der Gläser aufzuheben. Daraus entsprang die Vermuthung, dass das oligodynamisch Wirksame ein in Wasser schwer löslicher Stoff sein müsse, vielleicht Kupfer. Als v. Nägeli 10 Liter eines deutlich wirkenden destillirten Wassers chemisch untersuchte, fand er im Rückstand Blei, Zink, Kupfer und Eisen. Um Aufschluss über die zur Wirkung nothwendige Quantität von Metall zu gewinnen, beschickte er 12 Liter eines neutralen destillirten Wassers mit zwölf Zweipfennigstücken. Nach 3 bis 4 Tagen enthielten 10 Liter Wasser 0·00013 grm Kupfer, d. h. 1·3 Kupfer: 100 Millionen Wasser oder 1 Kupfer zu 77 Millionen Wasser. Nach alledem nimmt v. Nägeli an, dass in allen Fällen das oligodynamische Vermögen des Wassers doch auf Stoffe, die in demselben gelöst sind, zurückzuführen sei. Nur blieb hierbei das



Auftreten der Nachwirkung in den Gläsern, sowie die Aufhebung der Wirksamkeit durch unlösliche Körper räthselhaft, Umstände, die ja bei Vergleich mit Zucker- oder Salzlösungen kein Analogon besassen. Aber die Schwerlöslichkeit des Metalles erklärt dies Verhalten. Giebt man Kupfer in Wasser, so trennen sich Kupfertheilchen los, vertheilen sich im Wasser und treffen auch an die Glaswand: mit Concentrirterwerden der Lösung nimmt die Zahl der an der Wandung haftenden Kupfertheilchen zu. Die Gesammtmenge des Kupferüberzuges aber ist um so grösser, je ausgedehnter, im Verhältniss zum Wasser, die Wandfläche. Bringen wir unlösliche Körper, wie das zur Neutralisirung des wirksamen Wassers geschah, in das letztere, so vergrössern wir die Oberfläche und vermindern dadurch die Concentration. Das Phänomen der Nachwirkung erklärt sich durch das Anhaften des Kupferbelages an der Glaswandung, der oft weder mit der Bürste noch durch mehrmaligen Gebrauch des Glases entfernt werden kann. Dieselbe Nachwirkung konnte v. Nägeli constatiren, wenn er Lösungen von Kupfer-, Silber- oder Quecksilbersalzen verwendete.

Auf Grund dieser Untersuchungen erklärt v. Nägeli die ungleichen Eigenschaften des destillirten und Brunnenwassers dadurch, dass dasselbe, wenn es neutral wirkte, nicht, hingegen wenn es oligodynamisch wirkte, immer mit Metall in Berührung gewesen war.

Schliesslich entwickelt v. Nägeli nochmals die Gründe, die ihn veranlassen, die oligodynamische Erscheinung als eine gesonderte, streng von der chemisch-giftigen Wirkung zu scheidende aufzufassen.

Die Mittheilungen v. Nägeli's, die schon deshalb von hohem Interesse sind, weil sie eine dem Auge wahrnehmbare, qualitativ vollkommen verschieden sich geltend machende Veränderung von Zellen je nach Abstufung der Concentration einer Lösung constatiren, erfordern aber, wie ich glaube, auch ganz besonders die Aufmerksamkeit des Bakteriologen. Denn um wie viel mehr wird er gerade im Stande sein, die Beeinflussung des Zelllebens durch kleinste Mengen gelöster Stoffe feststellen zu können, der, unter Benutzung bekannter Lösungen, mit einer bekannten Aussaatmenge lebender Zellen zu arbeiten und durch exacte quantitative Bestimmungen den Endeffect zu controliren vermag. Gerade die Bakterienzelle wird bei ihrem winzigen Bau in rascher, präciser Weise darüber Aufschluss geben, ob wir z. B. eine Lösung mit minimalen, kaum oder schwer nachweisbaren Spuren einer Substanz als indifferent oder schädigend für das Bakterienzellleben zu bezeichnen haben. Da uns das Verfolgen des mikroskopischen Verhaltens hier im Stich lassen dürfte, schon weil die Feststellung des Todes dabei unsicher ist, so wird die Cultur den Endausgang am besten constatiren. Damit entfernen wir uns allerdings

4*



von den Untersuchungen v. Nägeli's, der ja gerade wegen der direct sichtbaren Veränderungen die oligodynamische Wirkung von der chemisch-giftigen glaubte trennen zu müssen. Vielmehr würde in bakteriologischem Sinne die Bezeichnung oligodynamisch für die Fälle zutreffend sein, wo nachweislich minimalste Stoffmengen die Zelle des Entwickelungsvermögens berauben.

1. Verhalten der auf jüngeren und älteren Culturen gewachsenen Cholerakeime im Wasser.

In einer Anzahl von Versuchen, in denen zunächst dichte Aufschwemmungen von Cholerakeimen jüngerer und älterer Culturen in destillirtem Wasser hergestellt wurden, ergab sich, als zur Keimzahlbestimmung eine Anzahl Tropfen aus der Keimsuspension in 25 ccm 0·5-procent. NaCl-Lösung gegeben wurden, dass öfters die von dieser Verdünnung aus hergestellten Gelatineplatten steril oder arm an Colonieen blieben, obwohl eine reichliche Anzahl der letzteren der ungefähren Abschätzung eines Hängetropfens des Originals nach hätten erwartet werden müssen. Manchmal, wenn aus dem letzteren eine grössere Tropfenanzahl in die Verdünnungslösung gegeben wurde, gingen reichliche Colonieen auf. Besonders die Keime der älteren Culturen verhielten sich schwankend.

Nach diesen Beobachtungen wurde zunächst die Frage in Angriff genommen, wie verhält sich ein und dieselbe Keimzahl in der als Verdünnung zur Herstellung zählbarer Platten benutzten gleichen Menge von Bouillon, Peptonwasser oder 0·5 procent. NaCl-Lösung?

Vers. 85. Fünfzehn Oesen einer 8 Tage alten Choleracultur (Agarplattenstrich) wurden in 1 ccm 0·5 procent. NaCl-Lösung aufgeschwemmt, davon fünf Tropfen in je 25·0 Bouillon, Peptonwasser und 0·5 procent. NaCl-Lösung in Tropfgläsern gegeben. Diese Verdünnungen wurden in gleichmässiger Weise gleich lange geschüttelt und darnach mit zwei Mal fünf Tropfen Platten gegossen. Schliesslich wurden von der Originalaufschwemmung direct mit je einem Tropfen Platten angelegt.

Die Keimzählung der acht Platten ergab Folgendes:

	1 Tropfen Original-	5 Tropfen der Bouillon-	der Pepton-wasser-	der Kochsalz-verdünnung
Platte α:	889000	59000	61000	581
„ β:	917000	54800	53500	627

Berechnen wir diese Zahlen auf die Originalaufschwemmung zurück, so würde 1 ccm derselben enthalten nach:

1. directer Zählung	2. nach Bouillon-	3. nach Peptonwasser-	4. nach Kochsalz-verdünnung
12600000	11400000	11500000	124000 Keime.

Vers. 86. Zur Nachprüfung dieser Resultate wurden fünfzehn Oesen einer 11 tägigen Agarcultur in 1 ccm 0·5 procent. NaCl-Lösung und die gleiche Anzahl Oesen in 1 ccm Bouillon vertheilt. Von jeder dieser beiden Aufschwemmungen wurden je fünf Tropfen in 25·0 Bouillon und 25·0 0·5 procent. NaCl-Lösung gegeben, geschüttelt und Platten gegossen, ebenso auch vom Original je ein Tropfen direct in Gelatine vertheilt. Berechnet auf 1 ccm Original ergaben die Zählungen:

	Bouillon direct	Bouillon verdünnt	Kochsalz direct	Kochsalz verdünnt
1 ccm =	9880000	9450000	8000000	500000
		(9200000)		(240000)
		Kochsalz verdünnt		Bouillon verdünnt
		8400000		8000000
		(7900000)		(6900000)

(Controlzahlen in Klammern.)

Es wurden nun auch 20h alte Culturen als Ausgangsmaterial benutzt, sowie mit den Temperaturen variirt, um dieser Wirkung der Kochsalzverdünnung nachzugehen.

Vers. 87. Je fünfzehn Oesen 20h alter Cultur wurden in 1 ccm auf Eis gekühlter, sowie in ebenso viel auf 37° vorgewärmter 0·5 procent. NaCl-Lösung vertheilt. Aus jeder dieser dichten Suspensionen wurden sofort fünf Tropfen in 25·0 0·5 procent. NaCl-Lösung und ebenso viel Tropfen in 25·0 Bouillon gegeben. Die Aussaat wurde so bewerkstelligt, dass die Verdünnungsflüssigkeiten die gleiche Temperatur wie die Originalaufschwemmungen besassen. Die Verdünnungen wurden gleichmässig geschüttelt und dann Platten gegossen. Derselbe Versuch wurde sodann wiederholt, nur kamen dabei in der Originalaufschwemmung vier Oesen 24h alter Cultur zur Vertheilung. (Vers. 88.)

1 ccm Original =	37°	0°
nach Bouillonverdünnung	497000000	525000000
„ Kochsalzverdünnung	26000	14000

Versuch 88.

nach Bouillonverdünnung	89000000	98000000
„ Kochsalzverdünnung	1350000	750000

Zur weiteren Charakterisirung von Kochsalzlösung als Verdünnungsmaterial sei noch folgender Versuch angeführt. Es handelte sich um

Keimzahlbestimmungen einer wässerigen Aufschwemmung. Die Verdünnung des keimreichen Materiales geschah in der Weise, dass fünf Tropfen in 25 ccm Bouillon vertheilt und hiervon Platten angelegt wurden. Neben dieser Bouillonverdünnung wurde in demselben quantitativen Verhältniss 0·7 procent. Kochsalzlösung zum Verdünnen verwendet, in gleichmässiger Weise geschüttelt und mit gleichen Tropfenmengen wie aus den Bouillongläsern Platten und Controlplatten gegossen. Die durch Plattenzählung gewonnenen Werthe wurden auf die Einheit eines Cubikcentimeters der Originalaufschwemmung zurückgerechnet, dadurch ergaben sich die in der folgenden Tabelle zusammengestellten Zahlen, wobei unter α die durch die Zählung der einen Platte, unter β die durch Zählung der Controlplatte ermittelten und auf die Einheit berechneten Werthe angeführt sind.

Derselbe Versuch ist in anderem Zusammenhange auf S. 56 mitgetheilt, woselbst auch die Versuchsanordnung vermerkt ist.

Tabelle X.

Keimbestimmung mittels

Cholera-Aufschwemmung 1 ccm =	Bouillonverdünnung			Kochsalzverdünnung		
	α	β	Mittel	Mittel	α	β
1 bei Aussaat	39 000 000	37 000 000	38 000 000	401 000	490 000	312 000
nach 1 Tag	472 000	540 000	506 000	320 000	320 000	460
„ 3 Tagen	24 500 000	18 200 000	21 350 000	9 031 000	18 000 000	62 000
2 „ 1 Tag	40 900 000	37 700 000	39 300 000	298 000	437 000	159 000
„ 2 Tagen	72 500 000	68 200 000	70 350 000	35 250 000	70 200 000	1 300 000
„ 3 „	18 200 000	23 500 000	20 850 000	19 525 000	16 750 000	22 300 000
3 „ 1 Tag	1 200 000	900 000	1 050 000	423 000	846 000	130
„ 2 Tagen	56 700 000	51 000 000	53 850 000	25 100 000	50 125 000	75 000
„ 3 „	23 600 000	21 000 000	22 300 000	205 000	363 000	47 000

Aus allen diesen Erfahrungen ist mit aller Entschiedenheit die Folgerung zu ziehen, dass die sogenannte physiologische Kochsalzlösung weit davon entfernt ist, ein für die Cholerabacillen indifferentes Medium zu sein, vielmehr wirkt dieselbe unter Umständen in hohem Grade baktericid, in einem Falle z. B. derart, dass der durch die Kochsalzverdünnung ermittelte Werth fast um das 10000fache hinter dem wirklichen Keimgehalte des untersuchten Materiales zurückstand.

Im Uebrigen zeigt dieses keimtödtende Vermögen der verwendeten Salzlösung die grössten Schwankungen, in mehreren Fällen war eine Keimverminderung durch die Lösung überhaupt nicht zu constatiren.



Im Laufe späterer Untersuchungen werden einige Factoren, die für dies Verhalten von ausschlaggebender Bedeutung sind, hervorgehoben und zergliedert werden. Schon aus obigen Versuchen geht klar hervor, dass der Grad der bakterienvernichtenden Wirkung der Lösung in einigen Beispielen ganz und gar von der Menge der eingesäten Keime bezw. der Menge des mit denselben eingeführten Nährmateriales abhing. So haben wir in Vers. 86 (S. 53) gesehen, dass, als die Originalaufschwemmung mit Kochsalzlösung hergestellt ward, in der gleichnamigen zu Verdünnungszwecken benutzten Lösung über 95 Procent zu Grunde gingen, hingegen, als in diese Verdünnungslösung mit der Einsaat zugleich Bouillon (fünf Tropfen zu 25 ccm Kochsalzlösung) gegeben wurde, die Keimzahl in nur wenig merklicher Weise beeinflusst wurde.

Diese Thatsache, dass mit dem Keimmaterial in die Kochsalzlösung übertragene Quantitäten von Nährmedium die schädigende Wirkung der Lösung entweder abzuschwächen oder aufzuheben vermag, entschuldigt es wohl auch, dass diese Schädigung bisher recht gering geachtet wurde, und die Kochsalzlösung zum Suspendiren von Keimen sich einer weitverbreiteten, allgemeinen Beliebtheit erfreut. Es ist klar, dass diese aus der thierischen Physiologie ohne Weiteres in die Bakteriologie übertragene Methode ganz ungerechtfertigt ist, da sie zu groben Fehlern führen kann. So viel sich jetzt folgern lässt, wird die durch die verschiedengradige Alteration der eingesäten Mikroben verschuldete Inconstanz der Resultate um so verhängnissvoller, je ungünstiger sich das Verhältniss der mit den Keimen übergeführten Nährsubstanz zu dem Volumen der Verdünnungslösung gestaltet.

In der Folge habe ich immer neutrale Bouillon oder eine neutrale Peptonkochsalzlösung (Pepton 0·1, Kochsalz 0·5, Aqua destillata 100·0) zur Verdünnung benutzt. Die letztere Lösung ist, wie Versuche zeigten, nicht gerade ein optimaler Nährboden, bleibt aber für einige Zeit dem Lebensprocesse unserer Vibrionen gegenüber indifferent.

Nur beiläufig sei bemerkt, dass mir die Beobachtung des raschen Zugrundegehens der Keime in der Kochsalzlösung deshalb zur unangenehmen Ueberraschung wurde, weil aus diesem Grunde die Ergebnisse einer Reihe von Versuchen als unzuverlässig ausgeschaltet werden mussten. Inwieweit dasselbe mit den in der Litteratur niedergelegten Resultaten, die in reichlicher Anzahl auf derselben und ähnlichen Versuchsanordnung fussen, zu geschehen hat, bleibe dahingestellt.

Nun erst konnte die Frage, ob die Keime jüngerer oder älterer Choleraculturen im Wasser einen Unterschied der Resistenz zeigen, untersucht werden.

Zu diesem Zwecke benutzten wir destillirtes Wasser, weil wir dadurch eine gleichmässige Basis und schnellen Ausschlag erhofften, und zwar wurde Glas in Glas destillirtes Wasser hergestellt, da ja erfahrungsgemäss das in den verschiedenen Instituten in grösseren Apparaten bereitete destillirte Wasser kleinste Beimengungen verschiedener Art enthält. — Um dem Einflusse mitübertragener Nährmengen, unter denen das Wasser zur verdünnten Nährlösung geworden wäre, zu begegnen, wurden wieder vorsichtig abgehobene, auf Agarflächen gewachsene Keime verwendet und als Suspensionsflüssigkeit für die letzteren zunächst immer das der zu impfenden Flüssigkeit gleichnamige Medium gewählt: in der ganz dichten Originalaufschwemmung trat für die kurze Dauer der Aussaat eine erheblichere Schädigung der auszusäenden Keime nachweislich noch nicht ein.

Von 20 h alter Choleracultur wurden 40 Oesen in 20 ccm Aqu. dest. ster. aufgeschwemmt (= Original), davon 5 Tropfen in 2 ccm (= I. Verdünnung) und 5 Tropfen in 25 ccm (= II. Verdünnung) destillirten Wasser übertragen, so dass also in der Originalaufschwemmung 1 ccm 2 Oesen, in der I. Verdünnung $^1/_3$ und in der II. $^1/_{36}$ Oese Cultur enthielt. Dieselben Aufschwemmungen, zu denen wir die virulente Choleracultur benutzten, wurden doppelt hergestellt und eine dritte Reihe von Tropfgläsern wurde in demselben quantitativen Verhältniss mit dem schon früher erwähnten, weniger virulenten Stamme besät. Von den mit virulentem Material beschickten Gläsern verblieb die eine Serie bei Zimmertemperatur (16 bis 22° C.), während die andere des gleichen Stammes, sowie die mit den avirulenten Keimen bei 37° gehalten wurden. Zur Keimzählung wurden immer zwei Platten gegossen. Die grosse Uebereinstimmung der Platten und ihrer Controlen in quantitativer Hinsicht war die Veranlassung, hier nur die Mittelwerthe der von den beiden Zählungen resultirenden Werthe anzuführen. Alle Zahlen sind auf 1 ccm des Inhaltes eines jeden Glases zurückgerechnet.

Dieselbe Anordnung kam dann bei einem weiteren Versuche zur Verwendung, nur wurden da zur Aussaat die Keime von 5 Tage alter Agarplatte benutzt und 50 Oesen der letzteren in 15 ccm Aqu. dest. ster. suspendirt. (Vgl. Tab. XI.)

Wie schon früher mitgetheilt wurde, war auch hier für die Vibrionen der älteren Cultur eine Steigerung der Haltbarkeit nicht zu constatiren, vielmehr erwiesen sich die Keime der 20 h alten Vegetation deutlich widerstandsfähiger. Während z. B. in der I. Verdünnung die jungen Keime bis zu 4 Wochen lebensfähig waren, besassen die labileren Vibrionen der 5tägigen Cultur höchstens bis zum zweiten Tage ihr Entwickelungsvermögen. Es ist zu vermuthen, dass die Eiweisssubstanzen des älteren Bakterienplasmas ebenso wie die jeder anderen alternden Zelle bei der



Tabelle XI.

A. 20 Stunden alte Cultur.

	1. Virulente Cultur bei 37°			2. Avirulente Cultur bei 37°			3. Virulente Cultur bei Zimmer-Temp.		
	Original	I. Verdünn.	II. Verdünn.	Original	I. Verdünn.	II. Verdünn.	Original	I. Verdünn.	II. Verdünn.
bei Aussaat	61 000 000	8 000 000	340 000	69 000 000	11 000 000	60 000	63 000 000	9 000 000	410 000
nach 1 Tag	19 500 000	6 000 000	0	4 900 000	524 000	140	9 040 000	4 075 000	15 000
„ 2 Tagen	49 000 000	550 000	0	51 000 000	5 500 000	0	86 000 000	7 500 000	300
„ 3 „	40 000 000	406 000	0	50 000 000	36 000 000	0	194 000 000	1 750 000	0
„ 6 „	9 000 000	0	0	37 000 000	3 600 000	0	16 000 000	16 000	0
„ 14 „	3 046 000	0	0	21 000 000	72 000	0	10 000 000	400	0
„ 4 Woch.	1 200 000	0	0	12 000 000	2 000	0	4 300 000	0	0
„ 8 „	320 000	0	0	840 000	0	0	1 300 000	0	0
„ 4 Mon.	311 000	0	0	226 000	0	0	270 000	0	0
„ 7 „	120 000	0	0	150 000	0	0	10 000	0	0
B. 5 Tage alte Cultur.									
bei Aussaat	48 000 000	7 000 000	300 000	38 000 000	2 300 000	90 000	45 000 000	5 000 000	250 000
nach 1 Tag	39 300 000	0	0	510 000	0	0	1 000 000	2 600	140
„ 2 Tagen	70 350 000	0	0	10 000 000	0	0	53 850 000	170	0
„ 3 „	20 850 000	0	0	21 350 000	0	0	22 300 000	0	0
„ 3 Woch.	1 200 000	0	0	3 000 000	0	0	7 200 000	0	0
„ 8 „	900 000	0	0	1 700 000	0	0	1 140 000	0	0
„ 4 Mon.	200 000	0	0	850 000	0	0	970 000	0	0
„ 7 „	50 000	0	0	430 000	0	0	380 000	0	0

plötzlichen Berührung mit Wasser in einen Quellungszustand gerathen, der weitere Lebensäusserungen unmöglich macht. Aber auch die Aenderung der osmotischen Druckverhältnisse wird in Erwägung zu ziehen sein. Wie A. Fischer[1] für Clostridium butyricum nachweisen konnte, unterscheidet sich das Verhalten der alten Bakterienzelle gegenüber der Plasmolyse darin von dem der jungen, dass bei der ersteren stärkere Plasmolyse eintrat, was Fischer darauf zurückführt, dass in der Bakterienzelle ebenso wie bei den Phanerogamen mit dem Alter der Protoplasmagehalt abnimmt, während die jüngere Zelle einen kräftigeren Protoplasmakörper und kleineren Saftraum führe. In gleichem Maasse wird auch die Zellmembran der auf dem trockenen und concentrirteren älteren Boden vegetirenden Keime in ihrer anatomischen Structur sich von derjenigen der jüngeren Zelle unterscheiden müssen, ihre Elasticität und Dehnbarkeit wird eine andere sein. Die Verfassung der Zellmembran aber ist von höchster Wichtigkeit für die nach Uebertragen der trockneren Keimmasse in Wasser stattfindenden Wasseraufnahme, und die Membran ist es wiederum, die dem vermehrten Druck Widerstand zu leisten hat. Dieser Druck aber muss ein ganz gewaltiger sein, wenn wir bedenken, dass sich die Zelle, um auf dem concentrirteren Nährboden existiren zu können, in einem salzreicheren Zustande befinden musste, genau so wie bei den Meeresalgen im Vergleich zu den Landpflanzen der osmotische Werth des Zellsaftes um ca. 3 Proc. Chlornatrium erhöht ist.[2] Das Ueberführen in das destillirte Wasser hat nun, wie wir in den zweiten Verdünnungen sehen, eine momentane Vernichtung der Zellen der älteren Vegetation zur Folge, nur wenige Keime überleben die kurze Zeit des Schüttelns. In der ersten Verdünnung zeigt sich dieselbe rapide Keimabnahme, nur in der bei der niederen Zimmertemperatur aufbewahrten Suspension vermögen einige wenige Keime zwei Tage lang die Schädigung zu tragen. Dass gerade bei höherer Temperatur die Keimvernichtung eine intensivere war, stützt wohl die oben versuchte Erklärung: bei höherer Temperatur ist erfahrungsgemäss das Eiweiss leichter quellbar, und auch der osmotische Process ist ein anderer, indem die Geschwindigkeit der Wasserbewegung mit wachsender Temperatur eine Steigerung erfährt (Krabbe).[3]

Im Gegensatz zu dem plötzlichen Zelltod, welchem die Keime in den beiden Verdünnungen anheimfallen, wirkt für dieselben eine Aufschwem-

---

[1] A. Fischer, Plasmolyse der Bakterien. *Berichte der K. Sächs. Gesellschaft der Wissenschaften.* Math.-phys. Classe. 1891. S. 62.

[2] Pfeffer. *Pflanzenphysiologie.* Bd. I. S. 121.

[3] Krabbe, Ueber den Einfluss der Temperatur auf die osmotischen Processe lebender Zellen. *Jahrb. für wissenschaftl. Botanik.* 1896. Bd. XXIX. S. 440.



mung, in welcher auf die Cubikeinheit weit mehr Organismen treffen, weitaus günstiger. Die Concentrationsänderung bewegt sich dann eben in engeren Grenzen, eine so plötzliche Aenderung des osmotischen Druckes tritt hier nicht ein, die etwa nothwendige Turgorregulation, wenn wir an analoge Verhältnisse bei der Pflanzenzelle denken dürfen, wird wenigstens von einer grösseren Anzahl von Individuen erzielt werden. Gleichwohl nehmen wir z. B. nach 24^h eine recht beträchtliche Keimverminderung wahr (vgl. Tab. XI, Col. 2, unter 0), die möglicher Weise noch viel weiter gehend zu constatiren gewesen wäre, wenn wir in kleineren Zeitintervallen Proben entnommen hätten; nur bei der bei 37^0 gehaltenen dichten Aufschwemmung der älteren virulenten Cultur (Col. 2, 1. Reihe) ist dieser Abfall nicht wahrnehmbar, vielleicht nur deshalb, weil die Individuenzahl schon wieder auf dem ansteigenden Schenkel der Wachsthumscurve sich befindet; denn in der That zeigen die Organismen bei allen den hier in Frage kommenden dichten Suspensionen die übereinstimmende merkwürdige Tendenz, den zunächst erfolgten Abfall späterhin durch Erzeugung neuer Generationen nicht nur zu compensiren, sondern sogar über die ursprünglich eingesäte Zahl hinaus sich zu vermehren. Nur eine bestimmte Anzahl und Auslese von Keimen, die den neuen Verhältnissen sich accommodirt, bildet so den Stamm für weitere Generationen, für welche das neue Medium, auch wenn es als Stickstoffquelle vielleicht nur die zerstörte Zellsubstanz der todten Keime enthält, wieder lange Zeit ausreicht, den Lebensprocess fortzusetzen. Im Anschluss an diese Beobachtung, dass in destillirtem Wasser in bestimmtem Verhältniss aufgeschwemmte Mikroorganismen unter Umständen zunächst zum grössten Theile schädigenden Einflüssen unterliegen, dass aber später eine neue Vegetation innerhalb desselben Mediums sich erhebt, sei die Bemerkung angefügt, dass dieses selbe Verhalten bei einer Reihe anderer, unten anzuführender Versuche sich beobachten liess. Wir sehen hier, wie das biologische Verhalten von Keimen innerhalb von Culturen oder deren Suspensionen durch die Keimzahl zum scharfen Ausdruck kommt, und welchen hohen Werth gerade hier quantitative Bestimmungen besitzen, die uns derartige Vorgänge getreu wiederspiegeln und in ausserordentlich feiner Weise zeichnen. Dieser gleiche Vorgang wird in der Natur tausendfältig sich vollziehen — hier ein Geschlecht, das in üppiger Lebensweise unter nur günstigen Bedingungen gleichmässig rasch heranwächst, um dann in schnellem oder langsamerem steten Abfall zu Grunde zu gehen, dort ein Stamm, der bei Eintritt schwerer Noxen zum grossen Theil erlischt, dessen überlebender und den Verhältnissen sich in sorgfältiger und geschickter Weise anpassender Rest befähigt ist, gleichsam auf den Trümmern desselben Geschlechtes eine neue Blüthezeit hervorzurufen.



Das Verhalten der Keime jüngerer Culturen ist noch zum Gegenstand specieller Untersuchungen gemacht worden. Es fällt vor Allem auf, dass die weniger virulente Cultur schon in der I. Verdünnung relativ günstige Bedingungen vorfand und sich hier von beträchtlich längerer Haltbarkeit erwies als die virulente Form, die doch anderen Einflüssen gegenüber immer resistenter war. Im Anfange trotzten in den Verdünnungen die Individuen jüngerer Vegetation den Schädigungen der Concentrationsänderung und des Ueberführens in ein nährstofffreies Medium viel energischer als die der älteren Cultur, sie verstanden es sogar, durch Anschmiegen an die neuen Verhältnisse, die Art für einige Zeit zu erhalten.

In der dichten Aufschwemmung finden wir mit denen der älteren Cultur correspondirende Verhältnisse, ein Unterschied der Haltbarkeit tritt hier nicht hervor. Es verdient vielleicht noch erwähnt zu werden, dass die absolute Zahl der in den Aufschwemmungen beobachteten Keime in derjenigen der bei Zimmertemperatur gehaltenen virulenten Cultur anzutreffen war, dass also das Maximum der Individuenzahl bei niederer Temperatur höher lag als das der bei 37° zur Entwickelung gelangten, eine Beobachtung, die man oft genug machen kann nnd die ihren Grund in dem bei niederer Temperatur verminderten Stoffwechsel und den davon influirten Verhältnissen finden dürfte.

Als von hohem Interesse ist weiterhin hervorzuheben, dass die Virulenz derjenigen Choleravibrionen (Col. 1, Reihe 1), die in der dichten Aufschwemmung noch jetzt nach über 8 Monaten lebensfähig sind, in genau demselben Maasse erhalten ist wie bei der Aussaat, ein auffälliges Zeichen dafür, dass bei der Anpassung an dies mit minimalsten Nährstoffmengen versehene Medium die Eigenschaft, unter neuen Verhältnissen Gifte zu bilden, in keiner Weise beeinträchtigt zu werden braucht.

Uebrigens ist die Colonieenbildung der in den dichten Suspensionen noch jetzt lebensfähigen Vibrionen im hohen Grade atypisch, nach 2- oder 3 maligem Umpflanzen in erneuter Gelatine kommt jedoch die normale Form wieder zum Vorschein.

Schliesslich möchte ich nicht unterlassen mitzutheilen, dass in den beiden bei 37° gehaltenen dichten Aufschwemmungen der virulenten und weniger virulenten Choleracultur sich die typische, makroskopisch und mikroskopisch mit aller Deutlichkeit wahrnehmbare Erscheinung der Agglutinirung zeigte. Dieselbe stellte sich zwischen der 4. und 8. Woche nach Herstellen der Suspension ein und besteht jetzt noch. Dieselbe Häufchenbildung war schon früher einmal merklich als Cholerabacillen in destillirtem Wasser erwärmt wurden.



2. Verhalten von Cholerabacillen im Leitungswasser.

In einem früheren Versuche war es aufgefallen, dass die Cholerakeime in unserem Leitungswasser fast ebenso rasch zu Grunde gingen wie im destillirten Wasser. Durch die Beobachtungen v. Nägeli's aufmerksam gemacht, kam mir der Verdacht, dass sich hier ebenfalls oligodynamische Einflüsse geltend machen könnten, in dem Sinne, dass vielleicht von der Metallleitung keimschädigende Substanzen in das Wasser übergehen könnten.

1. Wirkt das Leitungswasser oligodynamisch?

Es wurden Tropfgläser derart gereinigt, dass von der Wandung schädliche Einwirkungen ausgeschlossen wurden. Nach v. Nägeli verschwanden diese ja bei Behandlung der Gläser mit Salzsäure. Die Gläser blieben $^1/_2{}^h$ mit 10 procent. Salzsäure in Berührung. Unter dem starken Strahl der Leitung wurde sodann die Säure durch häufiges Spülen entfernt, darnach wurden die Gläser mit von Glas in Glas destillirtem Wasser des Oefteren nachgespült. In je 2 Gläser wurden nun je 25 ^{ccm} Leitungswasser (= „gestanden") aus einem Hahn gegeben, der 16^h lang nicht geöffnet gewesen war, vorher aber zu reichlicher Wasserentnahme gedient hatte. Aus demselben Hahne wurden nach 5′ langem Laufenlassen in stärkstem Strahle (18 Liter pro 1′) ebenfalls je 25 ^{ccm} (= „gelaufen") in Gläser gegeben. Nach 1^h langem Sterilisiren der Gläser im Dampf erhielt jedes 3 Tropfen einer Aufschwemmung von 3 Oesen 20stündiger Cultur in 3 ^{ccm} Aqu. dest. ster. Aufbewahren der Proben bei 25° C.

Die Keimaussaatmenge wurde am Anfang und Ende der Gläserinficirung besonders bestimmt. Die Zahlen bedeuten den Keimgehalt in 25 ^{ccm}.

Tabelle XII.

	Aussaat	Leitungswasser gelaufen	Controle	Leitungswasser gestanden	Controle	Aussaat
Beginn des Versuches	12 000 000	10 600 000	13 000 000	6 400 000	7 500 000	11 800 000
nach 1^h	—	7 000	87 000	0	0	—
„ 2^h	—	0	900	0	0	—
„ 4^h	—	0	0	0	0	—

Dieselbe Frage behandelt ein weiterer Versuch, der gleichzeitig den Einfluss der Dampfsterilisirung feststellen will.



2. Wie verhalten sich Cholerakeime im sterilisirten und nicht-sterilisirten Leitungswasser?

Das 10^h mit dem Ende des Leitungsrohres in Berührung gewesene Wasser wurde hier in Vergleich gebracht zu solchem, das aus dem Haupthahne im Keller zur Entnahme gelangte. Hier war ein Wasser erhältlich, das nur mit den weiten gusseisernen Strassenleitungsröhren in Contact gewesen war: aus dem Haupthahne wurde das Wasser 2^h laufen gelassen, während gleichfalls zwei von demselben Rohre gespeisten, in der 2. Etage befindlichen Hähne offen standen. Die Proben, die wir mit „Kellerwasser" und „Rohrwasser" bezeichnen und die aus dem Auffangegefäss (mit Aqu. dest. gereinigter, steriler Jenaer Kolben) in Mengen zu je 25^{ccm} durch ebenfalls mit Aqu. dest. gereinigte und sterilisirte Pipetten in sterile und in bekannter Weise gereinigte Tropfgläser gegeben waren, blieben zur Hälfte unberührt, zur anderen Hälfte wurden sie 1^h im Dampf sterilisirt, darnach wurden sie insgesammt durch Wasserbad auf die Temperatur von 25^0 gebracht und nun mit je 3 Tropfen einer Aufschwemmung von 5 Oesen 20stündiger Cultur in 3^{ccm} Aqu. dest. ster. inficirt. Aufbewahrung bei 25^0. Die Zahlen bedeuten den Keimgehalt von 25^{ccm} und wurden auf Zehntausender abgekürzt.

Tabelle XIII.
Leitungswasser.

	Nicht sterilisirt				
	Aussaat	Kellerwasser	Controle	Rohrwasser	Controle
zu Beginn	2100	1770	2000	2070	1690
nach 2^h	—	700	1100	0·0035	0·007
„ 4^h	—	320	100	0	0
„ 10^h	—	1	0·8	0	0
„ 2 Tag.	—	0	0	0	0
„ 3 „	—	0	0	0	0
„ 8 „	—	0	0	0	0
„ 14 „	—	0	0	0	0
	Sterilisirt				
zu Beginn	2040	1760	2000	1990	1880
nach 2^h	—	1400	1520	0·3	0·9
„ 4^h	—	820	1260	0	0
„ 10^h	—	600	800	0	0
„ 2 Tag.	—	200	340	0	0
„ 3 „	—	70	200	0	0
„ 8 „	—	0·24	13	0	0
„ 14 „	—	0·20	13	0	0



Die Resultate beweisen mit aller Deutlichkeit die oligodynamische Wirksamkeit des mit dem Hausleitungsrohr in Berührung gewesenen Wassers. Dasselbe wirkte, als der Hahn $^3/_4$ Tag lang geschlossen blieb, so vernichtend, dass bereits nach 1^h von 12 Millionen eingesäten Cholerakeimen nicht ein einziger mehr entwickelungsfähig sich erwies. Aber auch das 10^h lang im Rohr belassene verfügt schon über ein ganz ausgesprochenes bactericides Vermögen: von etwa 21 Millionen in 25^{ccm} Wasser eingebrachten Vibrionen besitzen nach 2^h nur noch etwa 50, also 0·0024 pro mille, ihre Lebensfähigkeit. Grundverschieden davon verhält sich das der Strassenleitung entlehnte Wasser: im sterilisirten Zustande wies dasselbe noch nach 14 Tagen wachsthumsfähige Organismen auf, die genau dieselbe Virulenz wie bei der Einsaat besassen.

Ein Blick auf die Zahlen der in den sterilisirten und nichtsterilisirten Gläsern befindlichen Keime lässt in jeder Colonne den begünstigenden Einfluss des auch nur 1stündigen Verweilens im Dampf erkennen. Nicht als ob nun bei der letzteren Art der Behandlung das Wasser durch die Ausschaltung der so oft zu Erklärungen herhaltenden „Concurrenz der Saprophyten" in besonderem Maasse im Vortheile gewesen sei; denn in den nicht sterilisirten Proben war nach 48^h noch keine erhebliche Vermehrung der allerdings in unserem Wasser nur spärlich (0 bis 3 Keime pro 1^{ccm}) vorhandenen Keime wahrzunehmen, erst nach 8 Tagen hatten diese sich reichlicher entwickelt, während Cholerakeime nach 2 Tagen und weiterhin auch mit Peptonwasseranreicherung nicht mehr nachweisbar waren. Vielmehr wurden, wie ich glaube, beim Sterilisiren von der Glaswand her Bestandtheile in's Wasser übertragen, die, bei weiterem Stehen sich vermehrend, das Keimleben günstig beeinflussten.

Es braucht wohl kaum darauf hingewiesen zu werden, dass die genannten Factoren, das Sterilisiren und die Berührung des Wassers mit der Metallleitung, die Differenzen, die hinsichtlich des Verhaltens von Cholerakeimen in Wasser bei einem Vergleich der einschlägigen Untersuchungen zu constatiren sind, ebensowohl zum guten Theil erklären dürften, wie die verschiedengradige Uebertragung von Nährsubstanz mit den Keimen in die Versuchsgläser. Wenn der Hygieniker es sich zur Aufgabe macht, das Schicksal von in's Wasser gelangten Infectionserregern zu verfolgen und das letztere gewissermassen auf seine Fruchtbarkeit hin zu prüfen, so wird er die hervorgehobenen Momente mit in Betracht ziehen müssen.

Es darf wohl noch die Vermuthung ausgesprochen werden, dass die Benutzung von solchem „oligodynamischen" Wasser — vielleicht als Hängetropfen zur Prüfung der Beweglichkeit einer Keimart oder zur

Suspension von Bakterien, zu Verdünnungen bei quantitativen Bestimmungen u. s. w. — gar nicht so selten zu falschen Resultaten geführt haben dürfte, man braucht in der Litteratur nicht lange zu suchen, so begegnet man der „wässerigen Aufschwemmung".

3. Ueber die Wirkung destillirten Wassers sowie über schädigenden und begünstigenden Einfluss kleinster Substanzmengen.

Es ist schon mehrmals im Verlaufe der Untersuchungen betont worden, dass oft minimalste, die Choleravibrionen treffende Anstösse, eine deutliche Reaction im Gefolge hatten. So sahen wir die Keime unter dem Einfluss der Metallrohrleitung rapid zu Grunde gehen und andererseits ward die Lebensdauer schon durch die beim Erhitzen der Glasgefässe sich lösenden Stoffe erheblich begünstigt. Um letztere Momente noch mehr zu erhärten und um weiteren Beeinflussungen durch Einwirkungen geringster Art, die sich am besten innerhalb destillirten Wassers erkennen lassen würden, nachzugehen, wurden die folgenden Versuche angestellt, deren Resultate zum Theil schon bei voraufgehenden Untersuchungen Berücksichtigung fanden, die aber der besseren Uebersicht halber hier ausführlichere Erörterung finden sollen.

Es wurde schon oben bemerkt, dass bei den Versuchen nur von Glas in Glas destillirtes Wasser zur Verwendung kam. Aber das so erhaltene Wasser konnte keineswegs als neutral im Sinne v. Nägeli's, d. h. nicht-oligodynamisch wirksam, bezeichnet werden, vielmehr wirkte dasselbe ebenfalls rasch keimtödtend. Aber andererseits verhielt es sich oft wie eine schwache Nährlösung und conservirte die Keime. Derartige Berichte sind auch in der Litteratur über die Wirksamkeit des destillirten Wassers, die aber immer nur beiläufig geprüft wurde, anzutreffen. Wie schon oben hervorgehoben wurde, ist für dies Verhalten vor Allem die mit den eingesäten Mikroorganismen übertragene Nährstoffmenge anzuschuldigen, die das destillirte Wasser zur Nährlösung macht. Aber auch bei Vermeidung des letzteren Umstandes und bei peinlichster Sauberkeit war keine Constanz zu erzielen. Die Gläser wurden allesammt nach v. Nägeli's Vorgang mit Säure behandelt, sie wurden nach anderer Vorschrift lange ausgekocht, das destillirte Wasser durch Pukall filtrirt und andere Variationen zum Vermeiden von Fehlern geschaffen, die Ungleichmässigkeit blieb noch immer. Erst als der Einfluss des Sterilisirens erkannt wurde, lenkte sich das Augenmerk auf die Löslichkeit der gewöhnlichen Glassorten. Unter Verwendung der Jenaer Glasgeräthe war es dann möglich, ein in seiner Wirksamkeit mit Sicherheit vergleichbares destillirtes Wasser herzustellen.

In den folgenden Versuchen sollte zunächst ermittelt werden, ob auch auf Bakterien minimalste Kupfermengen, so wie es v. Nägeli für Spirogyren feststellte, tödtlich zu wirken vermögen. Um die Versuchsanordnungen nicht wiederholen zu müssen, will ich auch die Resultate anderer Fragestellungen gleichzeitig wiedergeben und erörtern.

Wirkung von Kupferlösungen. Einfluss des Sterilisirens.

Zwei mechanisch gründlich gereinigte Zweipfennigstücke waren in Erlenmeyer mit 100 ccm Aqua dest. (gewöhnliche Destillation von Glas in Glas) gegeben worden. Nach 24h wurden von diesem Wasser je 25 ccm in mit Säure und destillirtem Wasser gereinigte gewöhnliche Gläser gebracht. Zur Controle der Wirkung wurden je 25 ccm Aqua dest. in Gläser gegeben. Diese sowie die Kupfergläser blieben nicht sterilisirt, während zum Vergleich zwei weitere mit 25 ccm Aqua dest. versehene Gläschen auf 1h in den Dampf kamen.

Vorwärmung sämmtlicher Gläser auf 20° C. Inficirung eines jeden Glases mit 3 Tropfen einer Aufschwemmung von 6 Oesen 20h alter Cultur in 6 ccm Aqua dest. ster. Aufbewahrung bei 20°.

Die Zahlen, wie alle folgenden, bedeuten den Keimgehalt von 25 ccm der untersuchten Suspension und sind auf Tausender abgekürzt.

Tabelle XIV.

	Aussaat	Kupfer	Controle	Aqua dest. nicht steril	Controle	Aqua dest. steril	Controle
zu Beginn	35 000	1 020	47	15 000	10 000	28 000	17 000
nach ½h	—	0	0·1	9 000	7 000	21 000	16 000
„ 1h	—	0	0	4 000	3 000	13 000	8 000
„ 2h	—	0	0	100	78	11 000	2 000
„ 4h	—	0	0	2	4	470	250
„ 10h	—	0	0	0	0	0·6	0·07

Das Kupferwasser entfaltete demnach eine ausserordentlich starke Wirksamkeit. Da wir die Menge des in Lösung übergegangenen Metalles nicht kannten, so wurde in Zukunft nur mit bekannten Concentrationen gearbeitet.

In einer besonderen Versuchsreihe wurde ermittelt, dass Kupfersulfát 1 : 50 bis 60 Millionen noch deutliche, stärkere keimtödtende Wirkung als destillirtes Wasser äusserte, die Wirkung von 1 : 10 Millionen oder 1 : 1 Million war schon ganz erheblich. Wir benutzten daher für weitere



Versuche die erstere Concentration, die ja ungefähr der von v. Nägeli verwandten Lösung entspricht.

Der nächste Versuch, dem die gleiche Fragestellung wie dem voraufgehenden zu Grunde lag, sollte gleichzeitig prüfen, ob kleinste Peptonmengen die schädigende Kupferwirkung zu paralysiren vermöchten.

Versuchsanordnung: 10 Oesen 20stündiger Cultur in 8 ccm Aqua dest. ster., daraus 3 Tropfen in die Gläser (gewöhnliches Glas), die bei 25° C. gehalten wurden.

Tabelle XV.

	Aussaat	Aqua dest. steril	Controle	Aqua dest. nicht steril	Controle
zu Beginn	21 300	15 100	13 500	5300	7000
nach 1^h	—	3 200	2 200	0·875	1·2
„ 2^h	—	640	900	0	0·02
„ 5^h	—	0·5	0·15	0	0
„ 24^h	—	0	0	0	0
„ 2 Tag.	—	0	0	0	0
„ 8 „	—	0	0	0	0
„ 10 „	—	0	0	0	0

	Kupfer 1 : 50 Mill. steril	Controle	Kupfer 1 : 50 Mill. nicht ster.	Controle	K. 1:50 Mill. + 0·001 % Pepton ster.	Controle	K. 1:50 Mill. + 0·01 % Pept. ster.	Aussaat
zu Beginn	16 000	13 000	6600	5000	19 800	20 000	18 000	19 300
nach 1^h	97·2	10	0·05	0·02	16 600	8 300	15 500	—
„ 2^h	0·2	0·7	0	0	7 000	225	7 000	—
„ 5^h	0·02	0	0	0	400	30	1 160	—
„ 24^h	0	0	0	0	0·2	0	4	—
„ 2 Tag.	0	0	0	0	0	0	0·07	—
„ 8 „	0	0	0	0	0	0	10	—
„ 10 „	0	0	0	0	0	0	12	—

Die vorliegenden Versuche beweisen, dass die Lebensdauer unserer Mikroben durch Sterilisiren des destillirten Wassers verlängert wird. Im frisch destillirten, nicht sterilisirten Wasser hingegen gingen sie rasch zu Grunde. In paralleler Weise, nur energischer keimtödtend, wirkt die Kupferlösung, auch in ihr wurden den Keimen durch voraufgehendes Sterilisiren der Lösung günstigere Existenzbedingungen geschaffen. Von den zur Kupferlösung zugefügten Peptonmengen wirkt 0·001 Procent schon merklich, 0·01 Procent schon erheblich keimerhaltend. Die von den Organismen der letzteren Medien auf Gelatineplatten gewachsenen Colonieen waren vollkommen atypisch, innerhalb derselben fanden sich



nach 24^h nur spärliche Einzelvibrionen, hingegen reichlich kräftige Spirillen. Die Virulenz erwies sich als unvermindert.

Den letzten Versuch habe ich, allerdings ohne Peptonbeigaben und nur mit nicht gekochten Medien, in Jenaer Glas wiederholt mit destillirtem Wasser, das nur in Jenaer Glas hergestellt und gehalten wurde und auch zur Herstellung der in Kolben desselben Glases vorgenommenen Lösung des Kupfersulfates diente. Das Resultat dieses Versuches weicht nur insofern von dem vorhergehenden ab, als in allen Gläsern die Keimzahl rascher abnahm, die Kupferlösung 1:50 Millionen wies schon nach 1^h, das destillirte Wasser nach 2^h keine Keime mehr auf.

Einfluss der Glaswand und Nachwirkung.

In einem Versuche hatte ich ein einzelnes gewöhnliches Glas, das vorher mit Kupferlösung 1:50 Millionen gefüllt gewesen war, nicht mit Säure gereinigt, sondern nur, nach 10′ langem Offenstehen des Hahnes, unter dem Strahl der Leitung mehrmals ausgespült und mit destillirtem Wasser nachgespült. Im Vergleich mit Gläsern, die mit Säure vorbehandelt waren, hatte dies Kupferglas mit destillirtem Wasser diesem eine entschieden grössere keimtödtende Fähigkeit verliehen. Der Sicherstellung dieser „Nachwirkung“ sollten sich die nächsten Versuche widmen, wobei gleichzeitig das Verhalten der Glaswand bei verschiedenartiger Behandlung zu prüfen war.

Es wurden 4 gewöhnliche Gläser (*a*, *b*, *c*, *d*) mit 25^{ccm} destillirten Wassers, 4 andere (*e*, *f*, *g*, *h*) mit gleichen Mengen Kupferlösung beschickt und 3 Tage bei 18 bis 20° stehen gelassen, nachdem sie wenige Minuten im Dampf gehalten waren. Nach 3 Tagen ward zum Vergleich die Menge von 25^{ccm} frisch destillirten Wassers und ebenso viel frisch hergestellte Kupferlösung in Gläser (*i*, *k*, *l*, *m*) gebracht. Von den 3 Tage gestandenen Proben sollten *a* und *b* („Aqua dest. gestanden“), sowie *e* und *f* („Kupferlösung gestanden“) dazu dienen, das Verhalten von Keimen nach längerer Berührung des Wassers oder der Kupferlösung mit dem Glase im Vergleich zu den frisch aufgefüllten zu kennzeichnen. Von den Gläsern *g* und *h*, die 3 Tage mit Kupferlösung gestanden hatten, wurde der Inhalt in reines Glas („Kupferlösung und reines Glas“) gegeben und dafür in die mit dem Kupfer in Contact gewesenen Gläser das in den Proben *c* und *d* befindliche destillirte Wasser übertragen (Aqua dest. und Kupferglas). Nachdem die Gläser so zubereitet waren, wurden sie mit je 3 Tropfen einer Aufschwemmung von 8 Oesen 20^h alter Cultur in 7^{ccm} Aqua dest. ster. inficirt und bei 25° gehalten. Durch diese Versuchsanordnung waren die Fragen gestellt: wie sich Aqua dest., sowie Kupferlösung in gewöhn-



lichem Glase gestanden und frisch verhalten, wie die alte Kupferlösung in frisches Glas übergeführt, sowie wie das gestandene destillirte Wasser in Kupferglas gegeben auf Keime wirken würde.

Tabelle XVI.

		1.		2.	
	Aussaat	Aqua dest. gestanden	Controle	Kupferlösung gestanden	Controle
zu Beginn	14 000	11 000	10 600	7000	6600
nach 1h	—	3 400	2 300	100	48
„ 2h	—	1 400	900	1	0·5
„ 4h	—	3·6	0·03	0	0
„ 10h	—	0	0	0	0

	3.		4.		
	Aqua + Kupferlösung	Controle	Kupferlösung + reines Glas	Controle	Aussaat
zu Beginn	10 000	8000	6000	7000	12 500
nach 1h	0·05	1	23	7·5	—
„ 2h	0	0	0	0	—
„ 4h	0	0	0	0	—
„ 10h	0	0	0	0	—

	5.		6.		
	Aqua dest. frisch	Controle	Kupferlösung frisch	Controle	Aussaat
zu Beginn	8000	9300	5000	6200	11 000
nach 1h	13	5	0·06	0·4	—
„ 2h	0	0	0	0	—
„ 4h	0	0	0	0	—
„ 10h	0	0	0	0	—

Der Versuch zeigt einmal, dass destillirtes Wasser, sowie Kupferlösung durch 3 Tage langes Verweilen im Glas den Keimen günstigere Lebensverhältnisse darbieten als die soeben erst in Gläser gegebenen frischen Medien. Man hätte vielleicht einen anderen Ausgang erwarten dürfen, wenn man an die Absorption von CO_2 von Seiten der gestandenen Flüssigkeit denkt. — Im Vergleich zum destillirten Wasser wirkte sowohl die alte wie die frische Kupferlösung energischer bactericid. Die Begünstigung, welche dieselbe durch das Stehenlassen erfährt, scheint demnach die schädigende Wirkung des Kupfers nicht völlig compensiren zu können. Merkwürdiger Weise wirkt diese alte Kupferlösung aber sofort rascher keimtödtend, wenn sie in frisches Glas übergeführt wird, sie wirkt dann



etwa ähnlich wie frisch destillirtes Wasser (vergl. Colonne 4, 5). Beim Uebergiessen der alten Kupferlösung in reines Glas ist die begünstigende Substanz also im Glase geblieben. Giebt man nun in das letztere das an und für sich recht günstig wirkende gestandene destillirte Wasser, so erhält dies, — nicht augenblicklich, aber schon in kurzer Zeit, die Fähigkeit, die Keime rascher zu vernichten (Col. 3). — Auf die hierbei in Frage kommenden chemischen Vorgänge kann ich nicht näher eingehen, da ich nur Vermuthungen, keine directen Beweise anführen könnte.

Verhalten von Keimsuspensionen im gewöhnlichen und im Jenaer Glas.

Es ist in weiteren Versuchen dem Einfluss der Wandung des gewöhnlichen Glases nachgespürt und im Vergleich hierzu das Verhalten in Jenaer Glas geprüft worden. Zu diesen Versuchen war das destillirte Wasser nur in Jenaer Geräthen hergestellt und aufbewahrt worden.

Es handelte sich zunächst um die Frage, ob auch bei Verwendung von Jenaer Glas eine keimbegünstigende Wirkung, etwa nach Sterilisirung, zu constatiren wäre.

Es wurden gewöhnliche und Jenaer Gläser mit 25 ^{ccm} Aqua dest. beschickt und 1^h im Dampf sterilisirt, darnach im Wasserbad mit einer Anzahl ebensolcher, aber nicht sterilisirter Gläser auf 25^0 erwärmt, mit je 3 Tropfen einer Aufschwemmung von 4 Oesen 20stündiger Cultur in 3 ^{ccm} Aqua dest. ster. inficirt und bei 25^0 aufbewahrt.

Tabelle XVII.
Aqua destillata.

	Aussaat	Jenaer Glas sterilisirt	Controle	Jenaer Glas ungekocht	Controle	Gewöhnl. Glas sterilisirt	Controle	Gewöhnl. Glas ungekocht	Aussaat
zu Beginn	26 400	1750	1200	1900	960	15 000	19 000	2900	27 000
nach 1^h	—	0	0	0	0	6 000	5 000	1·4	—
„ 2^h	—	0	0	0	0	200	600	0·02	—
„ 5^h	—	0	0	0	0	0·07	0·4	0	—
„ 24^h	—	0	0	0	0	0	0	0	—

Das auffallendste Ergebniss dieses Versuches ist die Gleichmässigkeit des Verhaltens der Keime im Wasser des sterilisirten und nicht sterilisirten Jenaer Glases. Während im gewöhnlichen Glase, wie durch eine grössere Anzahl Versuche und auch den vorliegenden erhärtet wurde, das Sterilisiren einen beträchtlichen Vortheil für unsere Organismen bewirkte und im Gegensatz dazu immer im ungekochten destillirten Wasser eine



raschere Unterdrückung der Lebensfunctionen erfolgte, ist eine Differenz in der Wirkung dieser beiden Behandlungsweisen des Wassers im Jenaer Glas nicht wahrnehmbar. Diese Thatsache, die durch weitere Versuche erhärtet ist, bietet wohl einen scharfen Ausdruck dafür, dass das Jenaer Glas in hohem Grade unangreifbar für die Wassermolecüle ist: selbst nach 1^{h} langem Kochen gingen nicht so viel Bestandtheile desselben in Lösung, dass sie einen Aufschub der keimtödtenden Wirkung des destillirten Wassers hätten zur Folge haben können.

Der folgende Versuch soll entscheiden, ob das im Jenaer Glas gestandene Wasser sich anders verhalten würde, sowie ob schon die kurz dauernde Berührung von destillirtem Wasser mit der Wandung des gewöhnlichen Glases, wie sie während des Durchschüttelns der Keimsuspension erfolgt, in dem Wasser Veränderungen hervorruft.

25^{ccm} Aqua dest., das nur mit Jenaer Glas in Berührung gewesen, wurde in steril. gewöhnliches Glas (Gläser *a*, *b*, *c*, *d*) und in Jenaer Glas (Gläser *e*, *f*) gegeben und darin 3 Tage bei 18 bis 20° aufbewahrt. Nach 3 Tagen wurden 25^{ccm} frisch destillirten Wassers in Jenaer Glas (*g*) und gewöhnliches Glas (*h*) übertragen. Von den 3 Tage lang gestandenen Gläsern wurde aus einem Jenaer Geräth der Inhalt in frisch gereinigtes gewöhnliches Glas und andererseits das 3 Tage lang in einem gewöhnlichen Glase gehaltene Wasser in reines Jenaer Glas übergegossen. Die Gläser wurden nun mit je 3 Tropfen einer Aufschwemmung von 7 Oesen 20^{h} alter Cultur in 6^{ccm} Aqua dest. ster. versehen und bei 20° aufbewahrt.

Tabelle XVIII.
Aqua destillata.

		1		2	3	4		5	6	
	Aussaat	Gestanden in gewöhnl. Glas	Controle	Gestanden in Jenaer Glas	Gestd. in Jen. Glas, übergeg. i. gewöhnl. Gl.	Gestd. in gew. Glas, übergeg. in Jenaer Glas	Controle	Gewöhnl. Glas, frisch	Jenaer Glas, frisch	**Aussaat**
zu Beginn	10 000	6500	6200	3100	4900	4100	4340	6800	2800	8500
nach 1^{h}	—	22·6	12	0	2·9	1·4	0·9	7·2	0·02	—
„ 1^{h} 50′	—	0·6	1·4	0	0·05	0	0	0·09	0	—
„ 5^{h}	—	0	0	0	0	0	0	0	0	—

In Bestätigung früherer Resultate ist aus dem vorliegenden Versuche eine conservirendere Wirkung des im gewöhnlichen Glase längere Zeit belassenen Wassers (Colonne 1 und 5) ersichtlich. Das im Jenaer Glas 3 Tage aufbewahrte Wasser (Col. 2, 6) zeigt hingegen kaum einen Unterschied gegenüber dem frisch in Jenaer Glas gegebenen. In jedem Falle

sinkt die Keimzahl im gewöhnlichen Glas allmählich ab. Giessen wir nun das im Jenaer Glas gestandene Wasser, welches erfahrungsgemäss die Keime in rapider Weise vernichtet, vor der Besäung in gewöhnliches Glas über, so genügt das kurze Verweilen in dem letzteren während des Schüttelns und der weiteren Beobachtung den Untergang unserer Organismen etwas hinauszuschieben. Das mit dem gewöhnlichen Glase 3 Tage in Contact gewesene Wasser hingegen, das, wie wir sahen, in relativ beträchtlicher Weise das Keimleben schont, verliert beim Uebergiessen in Jenaer Glas, dessen Wandung ihm nichts mitzutheilen vermag, einen Theil der begünstigenden Bestandtheile: das spricht wohl deutlich genug dafür, dass die Glaswand das Ausschlaggebende für das Verhalten war und dass schon die Manipulationen des Schüttelns den Uebertritt von Substanzen aus dem Glas in das flüssige Medium befördern.[1]

Die hohe baktericide Wirksamkeit des destillirten Wassers erhellt aus allen angeführten Versuchen. Obwohl auf diesen Punkt schon von einer Reihe von Beobachtern hingewiesen worden ist, wird diese Eigenschaft des destillirten Wassers noch immer recht häufig unterschätzt und vernachlässigt, ja man glaubt sogar eine besondere Sorgfalt bei Versuchsanordnungen walten zu lassen, wenn man „ganz reines destillirtes Wasser“ zu Keimsuspensionen in Verwendung brachte. Dass unter dieser Beeinflussung nicht wenige Resultate von Desinfections- oder Erwärmungsversuchen, von Keimzählungen bei mannigfachen Gelegenheiten u. s. w. getrübt sein mögen, ist zum Mindesten sehr wahrscheinlich. Dass aber andererseits die in der Litteratur öfters erwähnte Haltbarkeit oder sogar starke Vermehrungsfähigkeit bestimmter Keimsorten im destillirten Wasser nicht auf die Eigenschaften dieses Mediums, sondern vielmehr auf die Mitgabe von Nährsubstanz mit der Keimeinsaat, auf zufällige Verunreinigung, auf den Einfluss der von der Glaswand sich lösenden Bestandtheile u. s. w. zurückzuführen sein wird, beweisen wohl die mitgetheilten Versuche zur Genüge.

[1] Nach Abschluss der Versuche bemerkte ich, dass in der botanischen Litteratur bereits dieser Einfluss der Glaswand auf Algen, Aspergillus niger u. s. w. constatirt worden ist. Um die Berührung der Nährflüssigkeit mit dem Glas zu verhindern, überzog Molisch (*Sitzungsberichte der mathem.-naturw. Classe der K. Akademie der Wissenschaften*, Wien 1895, S. 789) die zu Algenculturen verwendeten Gläser mit dünner Schicht von Paraffin. W. Beneke (Die zur Ernährung der Schimmelpilze nothwendigen Metalle, *Jahrbuch f. wissenschaftl. Botanik*, 1895, Bd. XXVIII, S. 487) fand, dass in böhmischen Gläsern (Kaliglas) Aspergillus niger bei Darreichung kalifreier Nährlösung bedeutend vegetirte, während er in derselben Nährlösung in Jenaer Glas nur weisses, zum grossen Theile submerses Mycel entwickelte. Beneke macht ausführlich auf die durch die Substanz der Culturgläser sich ergebenden Fehlerquellen, besonders bei Untersuchungen über die Nothwendigkeit von Metallen bei Pilzernährung, aufmerksam.



Ein neutral wirkendes destillirtes Wasser, wie v. Nägeli das die Spirogyrenzellen nicht schädigende nennt, existirt nach alledem für Cholerakeime nicht, vielmehr zeigte dasselbe überall da, wo das Keimleben begünstigende Momente auszuschalten waren, eine exquisite zellenvernichtende Fähigkeit. Diese Fähigkeit ging auch nicht verloren, als unlösliche Körper, wie kleinste Fliesspapierfäserchen oder feinstes Meissner Caolin, zu der Keimsuspension zugesetzt wurden. Da ich ferner in Versuchen nachweisen konnte, dass die Keimzahl mit absteigenden Concentrationen von Kupferlösung schrittweise abnahm, so dass die schwächste Lösung am geringsten baktericid, aber immer noch stärker als das destillirte Wasser selbst wirkte, so hat für uns die „oligodynamische" Erscheinung die Bedeutung einer minimal chemisch-giftigen Wirkung, welche nur ein kurzer Schritt von derjenigen des destillirten Wassers trennt.[1]

Wodurch das destillirte Wasser baktericid wirkt, kann nur vermuthet werden. Dass es der Mangel an Nährstoffen ist, der das Weiterleben unmöglich macht, ist bei längerem Verweilen von Mikroorganismen in dem nährstofffreien Medium wahrscheinlich. Diese Erklärung ist es vorwiegend, die für die Vernichtung der in Aqua dest. gegebenen Pflanzenzellen sowohl wie der Bakterien in den diesbezüglichen Arbeiten hervorgehoben zu werden pflegt, wohl schon deshalb, weil man unter Vernachlässigung miteingeführter Nährmengen oder vom Glase ausgehender Bestandtheile eben meist nur ein relativ allmähliches Absterben, ein wirkliches Verhungern eintreten sah. Die zum Theil momentane, explosive Vernichtung jedoch legt, wie ich glaube, den Gedanken nahe, dass wir noch mit anderen Factoren zu rechnen haben. So wird, wie schon oben bei dem Verhalten der Keime älterer Culturen ausgeführt wurde, auch hier der schnelle Wechsel des Mediums, das Ueberführen aus einer immerhin recht stark salzhaltigen Umgebung in ein absolut salzfreies Wasser, das nun in das Plasma eindringt und den Druck rapid steigert, unmöglich ohne Schaden ertragen werden können, genau so, wie die an Salz-

[1] In einer ausführlichen Publication, auf die ich leider erst am Schlusse meiner Arbeit aufmerksam wurde, behandelt Israël (Biologische Studien mit Rücksicht auf die Pathologie, Virchow's *Archiv*, Bd. CXLVII, S. 294) die Frage der Giftwirkung minimaler Mengen von Metallen und Metallsalzen in Wasser. Er bestätigt, dass insbesondere Kupfer dem Wasser zugefügt an einer Reihe von Organismen, den Spirogyren, Bacteriaceen und Protozoën, die schwersten Störungen hervorruft. Die Art der Zellveränderung findet er abweichend von der v. Nägeli'schen Darstellung, er nennt die „oligodynamischen" Erscheinungen v. Nägeli's, deren Ursache auch nach Israël keine andere als die einer Giftwirkung ist, „plasmoschistisch". Die grossen Schwankungen, die Israël bei der Einwirkung von destillirtem Wasser bemerkte, finden vielleicht auch hier in der Wirkungsweise der verwendeten Gläser eine ausreichende Erklärung.

lösung accommodirten Pflanzenzellen, plötzlich in reines Wasser gebracht, durch den vermehrten Druck zersprengt werden.[2] Aber wenn die vom gewöhnlichen Glase sich lösenden Stoffmengen schon genügen, die Lebensdauer der von der Cultur in Wasser gegebenen Mikroben günstig zu beeinflussen, so müssen noch andere Schädigungen als die beim plötzlichen Wechsel in Betracht kommenden osmotischen Druckverhältnisse existiren. So wird daran zu denken sein, dass auch in den Bakterienzellen Eiweisssubstanzen vorhanden sind, die in Berührung mit destillirtem Wasser zur Quellung gebracht werden. Damit gewinnt die Zelle das plumpe, schon von Braem[1] beschriebene Aussehen. Unter dem Einflusse dieses Quellungszustandes ist es wahrscheinlich, dass Bestandtheile des Zellplasmas, die für die Lebensfunction desselben unerlässlich sind, in das destillirte Wasser übergehen, so werden vielleicht Salze die Zelle verlassen, wenn die letztere nicht gar bestimmter Eiweisssubstanzen auf diese Art verlustig geht. Der plötzliche Tod würde wenigstens so am ehesten eine Erklärung finden.

Diese vorliegenden Untersuchungen möchten das Augenmerk darauf richten, wie anscheinend geringfügige Momente in die Lebensthätigkeit der Bakterien oft schon tief einzugreifen vermögen. Dieser Umstand, den wir bei der im Laboratorium üblichen künstlichen Behandlungsweise der Mikroorganismen oft genug übersehen, darf uns nicht Wunder nehmen, wenn wir uns vergegenwärtigen, wie klein der Zellkörper dieser Lebewesen ist, wie minimal nur der Angriffshebel zu sein braucht, und wenn wir bedenken, dass die kleinsten Mengen einer Substanz ihre Thätigkeit schon deshalb so sicher zu entfalten in der Lage sind, weil der winzige Zellleib mit seiner relativ grossen Oberfläche allseitig in reichem Maasse Angriffspunkte für von aussen kommende Einwirkungen besitzt. Diese kleinsten Wirkungen aber vollziehen sich in der Natur ebensowohl wie im Reagensglase und dort in viel ausgiebigerem Maasse, weil hier die Stetigkeit des Wirkens fördernd hinzutritt und so die gewaltigsten Leistungen erzielt.

Diese Erkenntniss der Wirkung kleinster Kräfte auf die Mikroorganismen erfordert in gleicher Weise das Interesse des Biologen, dem gerade in den rasch vegetirenden Spaltpilzen die denkbar geeignetsten Zellen für eine Reihe wichtiger Untersuchungen zur Verfügung stehen, wie auch des Hygienikers, der Seuchen entstehen und erlöschen sieht, der das Verhalten der Krankheitserreger in der Aussenwelt prüft und ihre Vernichtung erstrebt.

---

[1] Pfeffer, *Pflanzenphysiologie*. 1897. Bd. I. S. 122.

[2] Braem, Untersuchungen über die Degenerationserscheinungen pathogener Bakterien im destillirten Wasser. *Inaugural-Dissertation*. Königsberg 1889.



Wenn es zunächst von Wichtigkeit erschien, durch die mitgetheilten Untersuchungen manche Versuchsfehlerquellen aufzudecken und auf die durch Vernachlässigung auch nur kleiner und indifferent erscheinender Momente resultirenden Schwankungen experimenteller Ergebnisse hinzuweisen und damit einige, für den im Laboratorium Arbeitenden verwerthbare Erfahrungen zusammenzustellen, so dürften doch auch, wie ich glaube, einzelne dieser Beobachtungen für die praktische Hygiene und Epidemiologie nicht ganz bedeutungslos erscheinen.

So dürfte beispielsweise zu beachten sein, dass eine eintretende Befeuchtung, sei sie nun Nebel oder Thau oder Regen, der für andere lebende Gebilde befruchtend wirkt, für Keime, die vorerst der Trocknung ausgesetzt waren, schwerste Schädigung und Vernichtung herbeizuführen vermag. — Auch werden wir in der Wirklichkeit damit zu rechnen haben, dass in der vor Trocknung geschützten Luft selbst die der Nährsubstanzen nahezu entbehrenden und inmitten ihrer Stoffwechselproducte lebenden Keime eine ganz erheblich lange Conservirung erfahren, die um so nachhaltender sich erweist, je weiter die Temperatur herabsinkt. — Wenn ferner selbst im reinsten Wasser die Keime, sofern sie sehr dicht suspendirt waren, eine beträchtliche Haltbarkeit zeigten, hingegen bei reichlicher Wasserzugabe einer raschen Vernichtung anheimfielen, so ist damit die Gefahr der Tümpel und stehenden Gewässer ebenso gekennzeichnet wie der Segen einer reichlichen Wasserversorgung und der Reinlichkeit in Haus und Hof. Schliesslich ist vielleicht noch darauf hinzuweisen, dass es für ein Gemeinwesen von höchster Bedeutung sein wird, wenn das Wasser desselben durch einen Aufenthalt weniger Stunden im Rohr der Hausleitung eine hervorragend baktericide Fähigkeit erhält, die der eines energischen Desinfectionsmittels, wenigstens für Cholerakeime, nicht nachsteht. Dass dies Moment für die Verbreitungsweise von Epidemieen von Belang sein dürfte, ist wohl in hohem Maasse wahrscheinlich.



[Aus dem patholog.-bakteriologischen Institute der K. K. Kranken-Anstalt „Rudolfstiftung“ in Wien.]
(Prof. R. Paltauf.)

Zur Methodik der Bakterienzählung.

Von

Dr. **Heinrich Winterberg.**

Eines der theoretisch und praktisch wichtigsten Probleme der Hygiene und Bakteriologie ist die Methodik der Bakterienzählung.

Die Beurtheilung der Vermehrungsgeschwindigkeit der Bakterien unter normalen Verhältnissen sowie unter dem Einflusse ihr Wachsthum hemmender oder befördernder Agentien chemischer oder physikalischer Natur, die exacte Prüfung des Keimgehaltes von Wasser, Luft u. s. w. ist nur auf diesem Wege möglich.

Seitdem R. Koch[1] die Methode der Plattenzählung in die Wissenschaft und Praxis einführte, hat dieselbe immer mehr an Terrain gewonnen und wird heute als mikroskopische Plattenzählung nach M. Neisser[2] ganz allgemein und fast ausschliesslich geübt.

Drei wesentliche Voraussetzungen liegen derselben zu Grunde:

1. Aus jedem Keime entsteht eine Colonie.
2. Alle lebensfähigen Keime wachsen unter den gewählten Culturbedingungen zu Colonieen aus.
3. Die gewachsenen Colonieen sind für uns erkennbar und zählbar.

Die letztere Bedingung ist durch die Verwendung des Mikroskopes bei der Plattenzählung, wenigstens insoweit es sich um isolirt stehende

[1] R. Koch, *Mittheilung a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1881. Bd. I. S. 27, 36.

[2] M. Neisser, Die mikroskopische Plattenzählung und ihre specielle Anwendung auf die Zählung von Wasserplatten. *Diese Zeitschrift.* 1895. Bd. XX. S. 119.



Ansiedelungen handelt, so ziemlich erfüllt, wie dies M. Neisser in einer ausführlichen Untersuchungsreihe dargethan hat.

Dagegen fehlt uns jede genaue Vorstellung darüber, inwieweit die beiden ersten Bedingungen zutreffend sind.

Schränkt schon die zweite Voraussetzung die erste ganz wesentlich ein, so entzieht sich die Annahme, dass jeder lebensfähige Keim unter den gewählten Culturbedingungen eine Colonie bildet — sie mag noch so wahrscheinlich sein — dennoch einer einwandfreien Kritik. Denn um die Lebensfähigkeit einzelner Keime zu erweisen, steht uns kaum ein anderes Mittel zu Gebote, als gerade ihr Vermögen, sich zu vermehren und so Colonieen zu bilden.

Die gewählten Culturbedingungen müssen ferner dem jeweiligen Optimum für jede Bakterienart genau angepasst sein. Für Keimgemische bedeutet diese Forderung eine directe Contradictio in adjecto. Für Reinculturen ist sie wohl kaum allgemein erfüllbar. Von allen anderen Umständen abgesehen, bietet schon die Aufgabe, die Zusammensetzung des Nährbodens auf das Optimum einzustellen, die grössten Schwierigkeiten.

So hat A. Reimsch[1] gefunden, dass Trinkwasser bei Vermehrung des Alkaligehaltes der Gelatine durch Zusatz von 0·005 Soda bicarbonica das $2^1/_2$ fache, von 0·01 desselben Salzes mehr als das 6 fache der Keime aufweist.

Aber auch unter der Voraussetzung, dass jeder fortpflanzungsfähige Mikroorganismus eine Colonie bildet, ist es noch mehr als fraglich, ob eine jede der so entstandenen Ansiedelungen auch für sich allein als solche erkennbar sei.

Schon eine oberflächliche Durchmusterung von Zählungsplatten zeigt, dass die Verhältnisse durchaus nicht einfach liegen. Die einzelnen Colonieen sind von der verschiedensten Grösse. Bald liegen sie isolirt, bald dicht neben oder unter einander, sind mehr oder weniger mit einander verwachsen, und wenn es auch oft leicht ersichtlich ist, dass eine Ansiedelung aus mehreren ursprünglich getrennten besteht, so ist es doch klar, dass eine solche Differenzirung nicht immer möglich ist.

Wie gross die dadurch bedingten der Methode zur Last fallenden Fehlergrenzen sind, das entzieht sich jeder Abschätzung.

Eine Untersuchung der gewöhnlich zum Giessen von Platten verwendeten Verdünnungsflüssigkeit lehrt auf den ersten Blick, dass selbst bei relativ grosser Verdünnung noch immer zahlreiche Keime so nahe aneinander gelagert sind, dass man keineswegs erwarten kann, aus ihnen isolirte Colonieen hervorgehen zu sehen.

[1] A. Reimsch, Zur bakteriologischen Untersuchung des Trinkwassers. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1891. Bd. X. S. 415.

Aber auch die räumlich genügend weit entfernten Keime sind als solche durchaus nicht einheitlich.

Selbst bei der besten Mischung und einer noch so weit getriebenen Verdünnung finden sich bei allen Bakterien und vorzugsweise bei besonderen Arten derselben die Einzelindividuen nur zu einem Theile isolirt, während sie zu einem anderen Theile grössere und kleinere Verbände darstellen, die ein Multiplum von einzelnen Keimen enthalten.

Auch die Uebertragung der Bakterien von einem Nährboden in den anderen, sowie die Temperatur sowohl bei der Einsaat als auch während der Züchtung setzen für wechselnde Bakterienformen gewiss Verschiedenheiten, deren Einfluss Schwankungen von unbekannter Breite für das schliessliche Resultat ergeben muss.

Endlich bleibt beim Giessen der Platten in den zu diesem Zwecke verwendeten Eprouvetten stets ein gewisser Theil der zur Aussaat bestimmten Flüssigkeit zurück, ein Fehler, der gleichfalls nicht zu unterschätzen ist. Er beträgt nach meinen an Spülungsplatten angestellten Untersuchungen bis zu 5 Procent.

Das Bedenklichste sämmtlicher angeführter Fehlerquellen liegt jedoch in dem Umstande, dass alle ihren Ausschlag nach derselben negativen Richtung geben, sich also nicht gegenseitig ausgleichen können, sondern mit einander summiren müssen.

Aus diesen Gründen erschien es nothwendig, die Plattenzählung, welche fast den Werth einer quantitativen Methode beansprucht, an der Hand eines anderen Verfahrens zu controliren, dem diese Fehlerquellen nicht anhaften und eventuell dieses an Stelle derselben zu setzen.

Die Wägung der Bakterien oder die Messung derselben z. B. durch Centrifugiren kam, abgesehen von anderen Gründen, schon deshalb nicht in Betracht, weil nachträglich erst recht eine Aichung der erhaltenen Resultate nach der Plattenmethode nothwendig wäre, um nicht nur relative Werthe zu erhalten.

Dagegen erschien es zweckmässig, eine schon lange in der klinischen Medicin, in neuerer Zeit auch in der Botanik mit gutem Erfolge verwendete Methode zu berücksichtigen, nämlich die Zählung mittels der von Thoma-Zeiss construirten Kammer. In der Bakteriologie hat dieselbe bis jetzt keine methodische Anwendung gefunden, obwohl von manchen Autoren, z. B. von Hueppe,[1] Lafar[2] und anderen auf sie verwiesen wird.

---

[1] Hueppe, *Bakterienforschung*. Wiesbaden 1891. S. 309.
[2] Fr. Lafar, *Technische Mykologie*. Jena 1897. S. 115.



Vergleichende Untersuchungen, inwieweit dieselbe brauchbare Resultate giebt, liegen indessen von keiner Seite vor. Offenbar ist man vor der Schwierigkeit zurückgeschreckt, welche das Erkennen und Abzählen kleinster mikroskopischer Objecte, wie es eben die Bakterien sind, bietet und dies umsomehr, als in Folge der Tiefe der Thoma-Zeiss'schen Kammer und der Dicke des Deckglases nicht die stärksten der uns zur Verfügung stehenden Linsensysteme zur Beobachtung gebraucht werden können.

Die vorliegenden Untersuchungen sollen nun in systematischer Weise feststellen, ob die Kammerzählung der Bakterien überhaupt durchführbar ist, ob sie mit dem Plattenverfahren vergleichbare Resultate liefert und welche Vor- bezw. Nachtheile sie diesem gegenüber besitzt.

Eine genaue Beschreibung der Zählkammer von Thoma-Zeiss findet sich in jedem Lehrbuche der klinischen Untersuchungsmethoden, ebenso Angaben über die Art und Weise, wie die Kammer beschickt und wie gezählt werden soll.

Bei der Zählung von Bakterien ist auf folgende Punkte eine besondere Aufmerksamkeit zu richten: Die Reinigung der Kammer hat unmittelbar vor und nach jedesmaligem Gebrauche zu geschehen. Dabei hat sich nachstehendes Verfahren am besten bewährt:

1. Abspülen mit Sublimat (1:2000) und Abtrocknen mittels Hirschlederlappens;
2. Abspülen mit destillirtem Wasser;
3. Abspülen mit 60 procent. und absolutem Alkohol;
4. Abspülen mit Aether;
5. Durchziehen durch die Flamme bis zu völligem Trocknen.

Dieselbe Procedur muss gleich sorgfältig mit dem Deckglase vorgenommen werden. Dasselbe wird zweckmässig ziemlich dünn gewählt. Es muss stets so dicht aufgelegt werden, dass die Newton'schen Farbenringe vollständig deutlich sichtbar sind.

Als Verdünnungsflüssigkeit dient frisch destillirtes, ganz keimfreies Wasser. Auch abgetödtete Mikroorganismen dürfen in demselben nicht vorhanden sein.

Ist die Kammer in der angegebenen Weise gereinigt und mit destillirtem Wasser beschickt worden, so dürfen keine mit Bakterien zu verwechselnde Objecte beobachtet werden.

Die Verdünnung geschieht am besten in Kochkölbchen von verschiedener Grösse, in denen auch eine genaue Mischung ohne Gefahr eines Verlustes vorgenommen werden kann.

Zur Durchmusterung der Kammer bediente ich mich eines Objectivs D und eines Oculars IV von Zeiss.



Um bei dieser Vergrösserung mit hinlänglicher Genauigkeit zu untersuchen, ist eine gewisse Einübung erforderlich. Im Anfange wurden fast immer zu geringe Zahlen gewonnen. Doch erlangte man bald die nöthige Sicherheit.

Die Zählung darf stets erst dann begonnen werden, wenn sich alle Keime auf dem Boden der Kammer abgelagert haben.

Bewegliche Bakterien müssen überdies zur Ruhe gekommen sein oder dürfen nur noch geringe Locomotionen erfahren, was gewöhnlich nach ca. 15 Minuten der Fall ist.

Bei der Durchprüfung der einzelnen Quadrate der Kammer werden die zu Zählenden in die Mitte des Gesichtsfeldes gebracht. Um eine leichte und sichere Verschiebung zu ermöglichen, genügt es, die untere Fläche des Objectträgers mit etwas Vaseline zu bestreichen. Man kann dann jede beliebige Stelle mit vollkommener Genauigkeit leicht einstellen.

Die Berechnung geschieht in einfacher Weise nach der Formel $x = \frac{n}{y} \cdot 250000$, die sich ohne Weiteres aus der Construction der Kammer ergiebt. Dabei bedeutet x die in 1 ^{ccm} der Zählflüssigkeit enthaltene Keimmenge, n die Anzahl aller gezählten Keime, y die Summe der durchgezählten grossen Quadrate, deren die Kammer im Ganzen 16 enthält.

Die Durchführbarkeit der Kammerzählung der Bakterien hängt in erster Linie davon ab, inwieweit die aus einzelnen Kammern erhaltenen Resultate mit einander übereinstimmen und wie viele Kammern, bezw. Quadrate gezählt werden müssen, um ein verlässliches Ergebniss zu erlangen.

Dies mögen folgende Versuche veranschaulichen.

I. Aufschwemmung von Staphylococcus aureus.
10 fache Verdünnung.

a)	63		75		70		82		
	63		95		89		70		
	73		67		87		73		
	71		73		92		80		
	270	+	310	+	338	+	305	=	1223.
b)	84		92		77		80		
	72		81		95		73		
	61		73		58		86		
	70		85		87		90		
	287	+	331	+	317	+	329	=	1264.



c)				
	92	64	61	76
	75	72	75	85
	86	68	83	62
	73	79	71	80

326 + 283 + 290 + 303 = 1202.

Mittelwerth (berechnetes Mittel aus allen Beobachtungen) = 1229·6.

Absolute und Procent-Abweichungen vom Mittelwerth:

a) 1223	1229·6	— 6·6	— 0·5	Procent,
b) 1264		+ 34.4	+ 2·8	„
c) 1202		— 27.6	— 2·1	„

Mittlere Abweichung vom Mittelwerthe (Mittel aus den Procent-Abweichungen) = 1·8 Procent. Grösste Procent-Abweichung zweier Werthe = 3·3 Procent.

a, b und c stellen das Resultat je einer ganzen Kammerzählung dar. Jede einzelne Zahl bedeutet die Summe der in einem grossen Quadrate bestimmten Keime. Dasselbe gilt von den folgenden Versuchen.

II. Aufschwemmung von Staphylococcus aureus.
10 fache Verdünnung.

a)				
	36	53	44	47
	37	48	38	46
	32	39	50	48
	42	31	49	54

147 + 171 + 181 + 195 = 694.

b)				
	39	43	43	45
	52	37	41	48
	40	45	50	56
	41	48	36	59

172 + 173 + 170 + 208 = 723.

c)				
	37	39	42	52
	41	57	42	53
	42	40	56	64
	46	46	48	45

166 + 182 + 188 + 214 = 750.

d)				
	38	45	54	46
	38	51	48	43
	42	45	38	47
	53	51	49	56
	171 +	192 +	189 +	192 = 744.

Mittelwerth = 727·75.

Absolute und Procent-Abweichungen vom Mittelwerthe:

a)	694	727·75	— 33·75	— 4·6 Procent,
b)	723		— 4·75	— 0·7 „
c)	750		+ 22·25	+ 3 „
d)	744		+ 16·25	+ 2·2 „

Mittlere Abweichung vom Mittelwerthe = 2·6 Procent.
Grösste Procent-Abweichung zweier Werthe = 7·6 Procent.

III. Aufschwemmung von Bacterium coli.

a)				
	23	21	23	28
	23	21	19	26
	25	17	27	22
	20	23	17	22
	91 +	82 +	86 +	98 = 357.

b)				
	16	20	12	18
	18	20	18	22
	16	19	10	23
	21	15	17	23
	71 +	74 +	57 +	86 = 288.

c)				
	21	13	18	23
	20	23	14	21
	25	20	17	22
	16	25	16	18
	82 +	81 +	65 +	84 = 312.

Mittelwerth = 319.

Absolute und Procent-Abweichungen vom Mittel:

a)	357	319	+ 38	+ 11·9 Procent,
b)	288		— 31	— 9·7 „
c)	312		— 7	— 2·2 „

Mittlere Abweichung vom Mittelwerth = 7·9 Procent.
Grösste Proc.-Abweichung zweier Werthe = 21·6 „

IV. Aufschwemmung von Milzbrand.

a)				
	6	7	8	3
	2	5	7	7
	4	8	6	3
	4	9	4	3
	16 +	29 +	25 +	16 = 86.

b)				
	7	7	10	9
	5	3	3	8
	12	6	4	7
	8	8	4	9
	32 +	24 +	21 +	33 = 110.



c)				
	6	9	7	10
	9	11	8	10
	3	4	8	8
	7	8	9	11

25 + 32 + 32 + 39 = 128.

Mittelwerth = 108.

Absolute und Procent-Abweichungen vom Mittelwerth:

a)	86	108	— 22	— 20·4 Procent,
b)	110		+ 2	+ 1.9 „
c)	128		+ 20	+ 18·5 „

Mittlere Abweichung vom Mittelwerth = 13·6 Procent.
Grösste Proc.-Abweichung zweier Werthe = 38·9 „

V. Aufschwemmung von Heubacillen.

a)				
	2	2	1	3
	2	5	1	1
	2	2	1	2
	2	2	3	5

8 + 11 + 6 + 11 = 36.

b)				
	3	3	2	0
	2	1	0	3
	2	3	5	3
	0	2	0	3

7 + 9 + 7 + 9 = 32.

c)				
	3	2	1	1
	4	4	3	4
	1	3	4	3
	2	2	2	4

10 + 11 + 10 + 12 = 43.

Mittelwerth = 37.

Absolute und Procent-Abweichungen vom Mittelwerth:

a)	36	37	— 1	— 2·7 Procent,
b)	32		— 5	— 13·5 „
c)	43		+ 6	+ 16·2 „

Mittlere Abweichung vom Mittelwerthe = 10·9 Procent.
Grösste Proc.-Abweichung zweier Werthe = 29·7 „

Aus diesen Versuchen, denen ich noch eine Reihe anderer anfügen könnte, die im Wesentlichen dasselbe Resultat ergeben haben, geht hervor, dass bei Durchzählung einer ganzen Kammer der Zählungsfehler im Mittel zwischen 1·8 und 13·6 Procent schwankt. Er ist im Allgemeinen um so kleiner, je grösser die Keimenzahl ist, wie aus der folgenden Zusammenstellung ersichtlich wird.



Versuch	Mittelwerth	Mittl. Proc.-Abweichung
I	1229·6	1·8 Procent
II	727·75	2·6 „
III	319	7·9 „
IV	108	13·6 „
V	37	19·9 „

Bei der mikroskopischen Plattenzählung beträgt nach M. Neisser der mittlere Zählungsfehler unter günstigen Verhältnissen $\pm \frac{1}{7} - \frac{1}{8}$, also ca. 12 bis 14 Procent.

Derselbe ist also keineswegs geringer als bei der Kammerzählung und kann nicht wie bei dieser durch eine dichtere Aussaat weiter herabgedrückt werden. Während 5 bis 10 Keime in einem kleinen Quadrat der Kammer gewöhnlich noch gut zählbar sind, ergeben Platten, die mit nur $^1/_{10}$ ccm einer Flüssigkeit, in welcher die Mikroorganismen so dicht gelagert sind, gegossen werden, ausnahmslos entweder ganz unbrauchbare Werthe oder sie sind überhaupt nicht zählbar.

Für die Methode der Kammerzählung ergiebt sich aus den angeführten Verhältnissen die Regel, die Zählung bei möglichst dichter Beschickung der Kammer vorzunehmen.

Zählt man eine Kammer vollständig durch, so wird der Zählungsfehler im Allgemeinen erträglich sein. Zweckmässiger ist es vielleicht, in zwei Kammern den Bakteriengehalt von je 8 grossen Quadraten zu bestimmen.

Neben dem durch die Zählung als solcher bedingten Fehler kommen die durch die Verdünnung gesetzten Abweichungen vom wahren Werthe in Betracht. Die Verdünnungsfehler werden natürlicher Weise um so grösser sein, je grösser die gewählte Verdünnung ist. Wie weit man mit derselben gehen kann, ohne die zulässigen Grenzen zu überschreiten, zeigen die folgenden Beispiele. In denselben sind die mittleren Procent-Abweichungen der Resultate ohne Rücksicht auf den Zählungsfehler dargestellt.

I. Aufschwemmung von Staphylococcus pyogenes aureus.
Drei Verdünnungen im Verhältniss 1:10:100.

	Verdünnung	Gefunden	Berechnet	Proc. Abweichung
a)	10 fach	696	697	— 0·1
b)	100 fach	68	69·7	— 2·4
c)	1000 fach	10	6·79	+ 43·4

Die Verdünnung a wurde hergestellt durch Mischen von 0·5 ccm der ursprünglichen Aufschwemmung mit 4·5 ccm Wasser.



$0 \cdot 5^{ccm}$ der Verdünnung a + $4 \cdot 5^{ccm}$ Wasser geben dann die Verdünnung b und von dieser wieder $0 \cdot 5^{ccm}$ + $4 \cdot 5^{ccm}$ Wasser die Verdünnung c. So oder ähnlich wurde auch bei den folgenden Versuchen verfahren.

II. Aufschwemmung von Staphylococcus pyogenes aureus.
3 Verdünnungen im Verhältniss 1:10:100.

	Verdünnung	Gefunden	Berechnet	Proc. Abweichung
a)	10 fach	2560	2575	— 0·5
b)	100 „	273	257·5	+ 6
c)	1000 „	25	25·75	— 2·9

III. Aufschwemmung von Bacillus Friedländer.
3 Verdünnungen im Verhältniss 1:5:25.

	Verdünnung	Gefunden	Berechnet	Proc. Abweichung
a)	5 fach	211	214·5	— 1·6
b)	25 „	45	42·9	+ 4·9
c)	125 „	10	8·58	+16·5

IV. Aufschwemmung von Bacillus coli.
3 Verdünnungen im Verhältniss 1:5:25.

	Verdünnung	Gefunden	Berechnet	Proc. Abweichung
a)	5 fach	1044	1071·75	— 2·5
b)	25 „	240	214·35	+12
c)	125 „	45	42·87	+ 5

V. Aufschwemmung von Bacillus pyocyaneus.
3 Verdünnungen im Verhältniss 1:10:100.

	Verdünnung	Gefunden	Berechnet	Proc. Abweichung
a)	10 fach	438	438	0
b)	100 „	42	43·8	— 4·1
c)	1000 „	6	4·38	+37

Diese Beispiele zeigen, dass mit wachsender Verdünnung der Verdünnungsfehler grösser wird und dass die Procent-Abweichung erst dann so bedeutend ist, dass verwerthbare Resultate nicht erwartet werden können, wenn in einer ganzen Kammer weniger als 20 Keime vorhanden sind.

Bei grösserer Verdünnung liegt der Fehler beinahe immer in positiver Richtung. Die Ursache dieser fast constanten Erscheinung liegt vielleicht darin, dass die Bakterienverbände stärker gelöst werden.



Es ergiebt sich also auch aus dieser Betrachtung die schon oben aufgestellte Forderung, die Kammerzählung bei möglichst geringer Verdünnung vorzunehmen.

Die folgenden Experimente enthalten vergleichende Bestimmungen, die einmal durch die Kammerzählung, das andere Mal durch mikroskopische Plattenzählung gewonnen wurden. Zur Verwendung gelangten entweder Aufschwemmungen frischer, höchstens 24 stündiger Agar-Culturen oder Bouillon-Culturen.

Die Agarplatten wurden in Petri-Schalen gegossen, bei 37° im Brutofen gehalten und in 24stündigen Intervallen gezählt, so lange, bis keine Zunahme oder bereits eine Abnahme der Colonieen erfolgte.

I. Staphylococcus pyogenes aureus, 24 stündige Bouilloncultur. 2 Tropfen in 100 ccm Wasser.

Von dieser Verdünnung sind in 1 ccm enthalten:

$$\text{Kammer} \left(\frac{28}{4 \times 16}\right) = 109\,375.$$

$$\text{Platte} \;.\; \left(\frac{309}{32}\right) = 84\,050.$$

$$\text{Abweichung} = -\,23 \text{ Procent.}$$

Die als Plattenzahl angesetzte Ziffer ist das Mittel aus 2 Bestimmungen. Es wurden mit je 0·5 ccm 2 Platten gegossen, von welchen die eine nach 24 Stunden 20900, nach 48 Stunden 73 600, die andere nach 24 Stunden 52 054, nach 48 Stunden 94 500 Colonieen auf 1 ccm der Aussaat berechnet enthielt.

Die in Klammern stehenden Zahlen bedeuten hier und in den weiteren Versuchen im Zähler die Summe aller gezählten Keime bezw. aller Colonieen, im Nenner die Zahl der gezählten grossen Quadrate bezw. der gezählten Gesichtsfelder.

II. Staphylococcus pyogenes aureus, 24 stündige Bouilloncultur. 3 Tropfen in 50 ccm Wasser.

1 ccm dieser Verdünnung enthält:

$$\text{Kammer} \;.\;.\;.\; \left(\frac{108\cdot75}{16}\right) = 1\,700\,000$$

$$\text{Platte mit } 0\cdot5^{\text{ccm}} \left(\frac{2263}{32}\right) = 501\,000$$

$$\text{Abweichung} = -\,70\cdot5 \text{ Procent.}$$

Die Kammerzahl ist das Mittel aus vier Bestimmungen mit einer mittleren Abweichung von 11 Procent.



III. Staphylococcus pyogenes aureus, 24 stünd. Bouilloncultur. 3 Verdünnungen: a) 10fach, b) 100fach, c) 1000fach.

a) Kammer $\left(\frac{696}{16}\right)$ = 10 875 000
Platte mit 1 ccm nicht zählbar.

b) Kammer $\left(\frac{68}{16}\right)$ = 10 620 000
Platte mit 1 ccm nicht zählbar.

c) Kammer $\left(\frac{10}{16}\right)$ = 15 600 000

Platte mit 1 ccm $\left(\frac{570}{32}\right)$ = 6 300 000.

Abweichung der Platte c von der Kammer a = — 42 Procent.

IV. Staphylococcus pyogenes aureus, 24 stünd. Bouilloncultur. 3 Verdünnungen: a) 10fach, b) 100fach, c) 1000fach.

1 ccm der ursprünglichen Bouillon enthält nach:

a) Kammer . . $\left(\frac{680}{16}\right)$ = 10 625 000
Platte mit 1 ccm $\left(\frac{590}{32}\right)$ = 589 000
Abweichung = — 94 Procent.

b) Kammer . . $\left(\frac{69}{16}\right)$ = 10 780 000
Platte mit 1 ccm $\left(\frac{70}{32}\right)$ = 662 000
Abweichung = — 93 Procent.

c) Kammer . . $\left(\frac{8}{16}\right)$ = 12 500 000.

Platte mikroskopisch wegen zu geringer Dichte der Colonieen nicht zählbar.

V. Bacillus Friedländer, 24 stündige Bouilloncultur. 3 Verdünnungen: a) 10fach, b) 100fach, c) 1000fach.

1 ccm der ursprünglichen Bouillon enthält nach:

a) Kammer . . $\left(\frac{388}{16}\right)$ = 6 063 000
Platte mit 0·25 ccm unzählbar.

b) Kammer . . $\left(\frac{39}{16}\right)$ = 6 090 000
Platte mit 0·25 ccm = 1 810 000.
Abweichung gegen Kammer a = — 70 Procent.



c) Kammer . . $\begin{pmatrix} 5 \\ 16 \end{pmatrix}$ = 7 800 000

Platte mit 0·25 ccm wegen schlechter Vertheilung nicht zählbar.

Das Gemeinsame dieser vergleichenden, aus einer Reihe gleichartiger herausgegriffener Untersuchungen liegt darin, dass das durch die Zählung der Kammer gewonnene Resultat constant das durch die mikroskopische Plattenzählung ermittelte bei Weitem überragt. Die Differenzen bewegen sich zwischen 23 und 94 Procent, sind also mitunter so gross, dass sie ernste Bedenken gegen die Methode der Plattenzählung wachrufen müssten, falls sie derselben allein zuzuschreiben wären.

Da sich aber die letztere ausschliesslich auf die Bestimmung der lebensfähigen Keime unter der Voraussetzung ihrer Fortpflanzungsfähigkeit beschränkt, so ist die Vorstellung nahe liegend, die Differenz der Resultate beider Methoden sei in dem Umstande gelegen, dass bei der Kammerzählung ausnahmslos alle Keime, ob todte oder lebende, in Rechnung gebracht würden.

In demselben Verhältnisse, wie nun in der Aussaat die lebenden zu den abgestorbenen Keimen stünden, müssten die Ergebnisse der Kammer- und Plattenzählung einander abweichen.

Um diesen wichtigen Einwand zu prüfen, stand nur das eine Mittel zu Gebote, nachweisbar lebende Mikroorganismen zur Zählung einerseits und zur Aussaat andererseits zu verwenden.

Das einzige sichere Kriterium, um das Leben der Spaltpilze zu erkennen, ist neben ihrer Vermehrungsfähigkeit die wenigstens einzelnen Arten zukommende Eigenbewegung.

Gelang es, nachzuweisen, dass in der Säeflüssigkeit mehr bewegliche Keime vorhanden sind, als bei der entsprechenden Platte Colonieen aufgehen, so war dieser Einwand zu Ungunsten der letzteren Methode entschieden. Zu diesem Zwecke wurden folgende Versuche ausgeführt.

I. Typhus, 24stündige Bouilloncultur.
Verdünnung von 1:100.

Die Zählung der Kammer ist Anfangs wegen allzu lebhafter Bewegung der einzelnen Bacillen nicht möglich. Nach 20 Minuten ist ungefähr die Hälfte der Keime noch deutlich, wenn auch schon träge beweglich. Es wurden nun in drei Kammern die beweglichen und die gesammten Keime gezählt. Die erhaltenen Werthe stimmen sowohl absolut, als auch relativ ziemlich gut überein. Es enthielt:

Kammer	I	97	Keime,	darunter	43	bewegliche,
„	II	109	„	„	42	„
„	III	93	„	„	30	„



1 ccm der Verdünnungsflüssigkeit enthielt also im Mittel 1 557 500 Keime, darunter 600 000 bewegliche.

Mit 0·5 ccm der Verdünnungsflüssigkeit wurden gegossen Platte A und drei Platten B.

Platte A enthält, auf 1 ccm berechnet:

$$\left(\frac{3195}{32}\right) = 780000 \text{ Colonieen.}$$

Die Platten B enthalten ebenfalls in 1 ccm:

Platte B I	324 000	Colonieen,
„ B II	463 000	„
„ B III	218 000	„
Zusammen also:	1 005 000	Colonieen.

Demnach enthielt Platte A um 30 Procent mehr Colonieen, als bewegliche Keime gezählt wurden, aber um 50 Procent weniger, als die Summe der ruhenden und beweglichen Keime betrug.

Daraus geht nur hervor, dass nicht alle ruhenden Keime lebensunfähig sind; für die sichere Entscheidung unserer Frage ist jedoch dieser Versuch nicht verwerthbar.

Die mit derselben Aussaat angelegten Platten B, bei welchen die Keime in einem grösseren Raume zur Vertheilung kamen, enthalten um 29 Procent mehr Colonieen als Platte A und nur um 35 Procent weniger Colonieen, als die Kammer an ruhenden und beweglichen Keimen ergab.

Dieses Verhalten weist darauf hin, dass die Differenz bei der Plattenzählung wenigstens zu einem grösseren Theile auf eine zu dichte Lagerung der einzelnen Keime zurückzuführen ist, auch wenn sich ihre Menge, bezw. die der entstandenen Colonieen in den bisher als zulässig geltenden Grenzen bewegt.

II. Pyocyaneus, 18stündige Bouilloncultur.
100fache Verdünnung.

Die Bacillen sind fast ausnahmslos sehr lebhaft beweglich. Nach Constatirung dieses Verhaltens in der Brutkammer bei 31° C. wird die Zählkammer bei gewöhnlicher Zimmertemperatur durch 20 Minuten belassen und sodann untersucht. Die Bacillen haben ihre Beweglichkeit nunmehr entweder gänzlich verloren, oder es bereitet dieselbe der Zählung keine weiteren Schwierigkeiten, da die Locomotionen nur noch geringe sind.

1 ccm der Verdünnung enthält:

$$\text{Kammer } \left(\frac{235}{16}\right) = 3\,672\,000.$$



Platte A mit 0·5 ccm der Verdünnung $\left(\frac{4563}{32}\right) = 1\,112\,000$.

Platte B I + B II + B III + B IV + B V zusammen mit ebenfalls 0·5 ccm:

$$\left(\frac{2444}{32}, \frac{1720}{32}, \frac{2239}{32}, \frac{1048}{32}, \frac{814}{32}\right) = 2\,121\,000.$$

Trotzdem also in diesem Versuche fast ausnahmslos lebende Keime zur Aussaat gelangten, bleibt die Platte A um 69·7 Procent hinter der Zählkammer zurück. Bei den Platten B sinkt diese Differenz auf 42 Proc., wobei die in denselben enthaltene Anzahl von Colonieen um 47 Procent steigt, obwohl dieselbe Flüssigkeitsmenge zur Aussaat verwendet wurde.

5 Gelatineplatten, die zusammen ebenfalls mit 0·5 ccm der Verdünnungsflüssigkeit beschickt wurden, enthielten nach 48 Stunden 2053000 Colonieen, ein mit dem durch Zählung der Agarplatten nach 24 Stunden gewonnenen Werthe gut übereinstimmendes Resultat.

III. Pyocyaneus, 14stündige Bouilloncultur, enthält nur bewegliche Keime. Verdünnung 1 : 600.

1 ccm der ursprünglichen Bouillon enthält:

Kammer	$\left(\frac{86}{16}\right)$	= 750 000 000.
Agarplatte mit 0·5 ccm	$\left(\frac{1858}{32}\right)$	= 223 000 000
„ „ „	$\left(\frac{1149}{32}\right)$	= 219 000 000
„ „ „	$\left(\frac{1348}{32}\right)$	= 203 100 000
„ „ „	$\left(\frac{1295}{32}\right)$	= 194 000 000.

Die Resultate der einzelnen, gleich beschickten Platten stimmen ziemlich gut unter einander überein. Die mittlere Abweichung derselben gegenüber der Kammer = — 72 Procent.

IV. Pyocyaneus, 18stündige Bouilloncultur, fast ausnahmslos bewegliche Keime. Verdünnung 1 : 144.

1 ccm der ursprünglichen Bouillon enthält:

Kammer . . . $\left(\frac{584}{8}\right) = 2\,300\,000\,000$.

Agarplatten:

I mit 0·5 ccm	$\left(\frac{16\,888}{32}\right)$	= 590 000 000
II „ 0·1 „	$\left(\frac{6753}{32}\right)$	= 1 182 000 000



III mit 0·05 ccm $\left(\frac{3541}{32}\right) = 1\,240\,000\,000$

IV „ 0·01 „ $\left(\frac{707}{32}\right) = 1\,270\,000\,000.$

Die Abweichung der Plattenwerthe von dem Kammerwerthe beträgt bei I = — 74 Procent, bei IV = — 44 Procent. Sie ist im Allgemeinen um so kleiner, je weniger dicht die Platten bestanden sind.

V. Bacillus coli, 24stündige Bouilloncultur.
Verdünnung 1:200.

1 ccm der ursprünglichen Bouillon enthält:

Kammer . . . $\left(\frac{250}{16}\right) = 781\,000\,000.$

Agarplatten: a) Verdünnung 1:200.

I mit 0·2 ccm $\left(\frac{3455}{32}\right) = 431\,000\,000$

II „ 0·1 „ $\left(\frac{1922}{32}\right) = 469\,000\,000.$

b) Verdünnung 1:24000.

III mit 0·5 ccm $\left(\frac{101}{32}\right) = 579\,000\,000$

IV „ 0·2 „ $\left(\frac{56}{32}\right) = 650\,000\,000$

V „ 0·1 „ $\left(\frac{32}{32}\right) = 892\,000\,000.$

Auch in diesem Experimente waren so gut wie alle Keime beweglich. Die Platten zeigen mit dem Kleinerwerden der Aussaat eine Verminderung der Abweichung vom Kammerwerthe von — 44·5 Procent bei Platte I bis auf — 16·7 Procent bei IV. Platte V giebt sogar eine Abweichung von 14 Procent in positiver Richtung.

Jedoch ist bei IV und V die Verdünnung schon so weit getrieben, dass die Resultate dieser Zählungen kaum noch Berücksichtigung verdienen.

Die angeführten Versuche lassen wohl klar erkennen, dass die grosse und constant in negativer Richtung liegende Differenz zwischen Platten- und Kammerzählung auch dort vorhanden ist, wo nur lebendes Material zur Aussaat kommt. Sie lehren gleichzeitig, dass dieselbe wenigstens zu einem grossen Theile mit der Dichte der Aussaat in Zusammenhang gebracht werden muss. Inwieweit an derselben andere Versuchsfehler, wie geringe Abweichungen vom Optimum des Nährbodens oder der Temperatur u. s. w., Theil haben, lässt sich bei der einzelnen Beobachtung

nur schwer feststellen. Dass aber der Einfluss dieser und anderer Momente ein ganz wesentlicher sein kann, ist eine sattsam bekannte und durch specielle Versuchsführungen erhärtete Thatsache.

Im Folgenden erscheinen noch einige andere, an verschiedenen Spaltpilzen gewonnene Versuche angeschlossen, die im Wesentlichen mit den vorausgehenden übereinstimmen.

VI. Bacillus subtilis, 24stündige Bouilloncultur.

Kammer unverdünnt $\left(\frac{1393}{16}\right)$ = 21 750 000.

Agarplatten: Verdünnung 1:54.

I. mit 0·5 ccm $\left(\frac{59}{32}\right)$ = 777 000

II. „ 0·2 „ $\left(\frac{27}{32}\right)$ = 868 000

III. „ 0·1 „ $\left(\frac{12}{32}\right)$ = 790 000

Mittlere Abweichung = — 97 Procent.

Die Colonieen in den Platten bilden nicht scharf umschriebene Ansiedelungen, sondern bestehen aus einem dichteren Kerne, von dem ein weit in die Umgebung reichendes, oft das ganze Gesichtsfeld ausfüllendes Fadenwerk ausgeht.

In der Zählkammer sind neben einzelnen Gliedern lange, 10 und mehr Individuen zusammenfassende Fäden vorhanden.

Diese werden ebenso wie in allen übrigen Versuchen grössere und kleinere Häufchen, Rasen, Ketten oder Zusammenlegungen anderer Art immer nur als 1 gerechnet.

VII. Bacillus subtilis, 16 stündige Bouilloncultur.
Alle Keime beweglich.

Kammer, Verdünnung 1:10 $\left(\frac{78}{16}\right)$ = 12 250 000.

Agarplatten derselben Verdünnung mit 0·5, 0·2 und 0·1 ccm sämmtlich unzählbar. Agarplatten, Verdünnung 1:36, mit 0·5 und 0·2 ccm unzählbar, mit 0·1 ccm = 3 597 000. Abweichung = — 70 Procent.

VIII. Bacillus anthracis, 24stündige Bouilloncultur.

1 ccm der ursprünglichen Bouillon enthält:

Kammer unverdünnt $\left(\frac{108}{16}\right)$ = 10 688 000.

Platten mit 0·5, 0·2 und 0·1 ccm bei 10 facher Verdünnung unzählbar.



Agarplatten: Verdünnung 1:100.

I. mit $0 \cdot 5^{ccm} \left(\frac{55}{32}\right) = 1\,310\,000$

II. „ $0 \cdot 2$ „ $\left(\frac{34}{32}\right) = 1\,974\,000$

III. „ $0 \cdot 1$ „ $\left(\frac{23}{32}\right) = 2\,804\,000.$

Mittlere Abweichung = — 80·9 Procent.

IX. Bacillus anthracis, 24stündige Bouilloncultur.

1 ccm der ursprünglichen Bouillon enthält:

Kammer 10fache Verdünnung = 14 270 000,
Platten „ „ = unzählbar.

Agarplatten 100fache Verdünnung:

I. mit $0 \cdot 5^{ccm}$ = 2 100 000.
II. „ 0·2 „ = 2 340 000.
III. „ 0·1 „ = 3 150 000.
Mittlere Abweichung = — 82 Procent.

Der Bau der einzelnen Colonieen bei den Heu- und Milzbrandbacillen, sowie die bedeutende Grösse, welche dieselben erreichen, setzt für die Zählung und Differenzirung derselben gewiss sehr ungünstige Bedingungen.

X. Vibrio cholerae asiaticae, 24stündige Bouilloncultur.

1 ccm der Bouillon enthält:

Kammer 10fache Verdünnung . . . . . $\left(\frac{511}{12}\right) = 106\,457\,000.$

Agarplatten 100fache Verdünnung mit $0 \cdot 5^{ccm} \left(\frac{452}{32}\right) = 14\,804\,000.$

Abweichung = — 86 Procent.

Die angeführten Beispiele könnten noch durch eine grosse Reihe anderer ähnlicher bereichert werden.

Sie alle zeigen, dass die Kammerzählung constant bei Weitem höhere Werthe liefert als die Plattenzählung, auch dann, wenn dieselbe mikroskopisch vorgenommen und nur lebende Zellen ausgesät werden.

Die Differenzen sind mitunter so gross, dass der Werth der Platten-Zählmethode völlig in Frage gestellt wird. Eine quantitative Mengenbestimmung der Bakterien ist mittels der Plattenzählung gewiss illusorisch. Dabei kommt noch der Umstand in Betracht, dass es sich bei den vorliegenden Untersuchungen immer nur um Reinculturplatten gehandelt hat. Bei Gemischplatten liegen die Verhältnisse ja noch viel complicirter.



Trotzdem kann die Methode der Kammerzählung in praktischer Hinsicht nicht an Stelle der bisher üblichen gesetzt werden. Denn wenn wir auch im Experimente die Bedingungen so wählen können, dass der Einwand der todten Keime ausgeschaltet wird, so sind wir das den Problemen der praktischen Hygiene gegenüber keineswegs im Stande.

Wir können nie mit nur annähernder Sicherheit bestimmen, wie viel von den in einer Kammer gezählten Keimen noch lebend und fortpflanzungsfähig sind und würden deshalb nicht über eindeutige Resultate verfügen. Bei verunreinigten Prüfungsobjecten wird es überdies unmöglich sein, kleinste Partikelchen anderer Art scharf genug von Mikroorganismen zu unterscheiden.

Dagegen dürfte die Methode der Kammerzählung für viele Aufgaben der wissenschaftlichen Forschung den Vorzug verdienen. Namentlich die Untersuchungen über die Vermehrungsgeschwindigkeit der Bakterien, sowie über den Einfluss hemmender oder fördernder Umstände auf dieselbe, werden auf diesem Wege exacter durchgeführt werden können.

Eine quantitative Methode zu sein, darf aber auch die Kammerzählung der Bakterien nicht beanspruchen. Auch sie giebt im Allgemeinen zu geringe Werthe, da sowohl die Kokken als auch die Stäbchen, Schrauben u. s. w. nur selten isolirt sind, meist hingegen auch bei der sorgfältigsten Mischung und bei weitest gehender Verdünnung Verbindungen von mehr als einem Individuum darstellen. Als Einzelwesen wurden in meinen Untersuchungen, wie schon erwähnt, immer nur sicher von einander getrennte Keime, Gruppen oder Reihen derselben gezählt.

Das Resultat der vorliegenden Untersuchungen ist in kurzer Zusammenfassung folgendes:

Die Kammerzählung ist als solche gut ausführbar. Sie liefert viel bessere Ergebnisse, als die mikroskopische Plattenzählung, die sie aber in praktischer Beziehung nicht zu ersetzen vermag. Für einzelne wissenschaftliche Probleme dürfte sie mit Vortheil angewendet werden. Als quantitative Methode ist auch sie nicht anzusehen.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden zu einem Theile in Gemeinschaft mit Hrn. Dr. Bondy, Secundärarzt im K. K. Rudolfspitale, ausgeführt, den jedoch äussere Umstände an der gänzlichen Durchführung derselben hinderten.

[Aus dem Bakteriologischen Institute an der Kaiserl. Universität zu Moskau.]

Ueber Pseudoaktinomykose.

Von

N. Berestnew.

(Hierzu Taf. I—III.)

Durch das Anwachsen von casuistischen Beiträgen über Aktinomykose, die einem sorgfältigen bakteriologischen Studium unterzogen worden, wurde allmählich klargestellt, dass unter dem Namen von Aktinomykose nicht selten solche krankhafte Formen, welche zwar dem Aussehen, den Symptomen und dem Verlaufe nach der Strahlenpilzkrankheit entsprachen, in ätiologischer Beziehung jedoch nichts Gemeinsames mit derselben hatten, beschrieben wurden. Diese Erkrankungen wurden in die gemeinsame Gruppe der Pseudoaktinomykose ausgeschieden.

Bevor ich aber zu dieser letzteren übergehe, sei noch hervorgehoben, dass die Erreger der Aktinomykose bis jetzt keine von Allen acceptirte und streng ausgesprochene Benennung besitzen, weshalb Leiden strahlenpilzartigen Charakters unter verschiedenen Bezeichnungen als Aktinomykose und als Krankheiten, bedingt durch Parasiten aus dem Genus Cladothrix und Streptothrix, beschrieben wurden. Dieser Umstand erfordert vor Allem, eine für alle Erreger der Aktinomykose gemeinsame Nomenclatur aufzustellen, wodurch schon an und für sich die Frage, welche Erkrankung als Aktinomykose und welche als Pseudoaktinomykose zu bezeichnen ist, wegfällt.

Wendet man sich der Geschichte dieser Frage zu, so findet man, dass Bollinger und Harz (1), die zuerst die Benennung Aktinomykose für die Krankheit des Rindes eingeführt, von der strahligen Anordnung



der Körnchen, in deren Form der Parasit (verästelnde Fäden mit keulenförmigen Anschwellungen an den Enden) in den afficirten Organen angetroffen wurde, ausgingen.

Bollinger und Harz gelang es nicht, den Parasiten zu cultiviren. Später wurde diese Krankheit auch bei anderen Warm- und Kaltblütern, sowie beim Menschen nachgewiesen.

O. Israël (2), der im Jahre 1883 zuerst eine Cultur des Strahlenpilzerregers erhalten, gelang es, soweit aus der unvollständigen Beschreibung[1] ersichtlich, allem Anscheine nach wirklich den „Strahlenpilz“ zu züchten. Die nach O. Israël folgenden Beobachter jedoch, Kischensky (3), J. Israël und M. Wolff (4) (1888—1889), welche Culturen des Parasiten in 3 Fällen von „Aktinomykose“ beim Menschen nachwiesen, fanden erstens zwei verschiedene Mikroben und zweitens solche, die sich ganz bedeutend von den wirklichen Strahlenpilzen unterschieden. Die Colonieen der beschriebenen Mikroben waren vor Allem nicht strahlenförmig angeordnet und bildete der Parasit keine ramificirenden Fäden auf den künstlichen Nährböden schon gleich im Beginn seiner Entwickelung ausserhalb des Organismus, bei jeglicher Temperatur und in allen künstlichen Medien, er trat jedoch in Form von verschieden langen Stäbchen auf, welche in den Culturen von Kischensky, die bei 32° gediehen, erst nach Ablauf von einer Woche sich zu ramificirenden Fäden auszogen, wogegen die bei Zimmertemperatur gewonnenen Culturen, wie lange sie auch wachsen, stets als kurze Stäbchen sich documentirten. J. Israël und M. Wolff züchteten aus zwei Fällen von Menschenaktinomykose einen Parasiten, der ein anaërobes Wachsthum der Aërobiose vorzog, der ausschliesslich sowohl in rohen als gekochten Eiern in Form von langen verästelnden Fäden auftrat, auf anderen Nährböden jedoch sich als kokkenartige und plumpe kurze, oft gebogene Stäbchen präsentirte. Dieser Pilz gedieh auf Agar in Form einzelner höckeriger Colonieen von bräunlich-gelber Farbe, dem Nährboden ziemlich fest anhaftend. Ein identischer Pilz ist im Jahre 1895 von Aschoff (5) bei einem Fall von Aktinomykose der Lunge beim Menschen constatirt worden. Diese Mikroben, welche sich scharf von dem wirklichen Strahlenpilze unterscheiden, sind als letztere beschrieben worden und gelten heutzutage als Aktinomycespilze. Hierher gehören auch die Culturen des Dr. Ebermann (6), die er in einem Falle von Strahlenpilzkrankheit des Menschen nachgewiesen. Sie gediehen auf Bouillon, welch letztere sich nicht trübte, in Form unregelmässiger Klümpchen; auf Agar erreichten 2wöchige Colonieen die Grösse eines Stecknadelkopfes; längs des Striches erhielt man weisse

[1] Virchow's *Archiv.* Bd. XCV.



kleine Kügelchen; anaërobe Mikroben entwickelten sich besser als bei Anwesenheit von Sauerstoff der Luft. Das mikroskopische Bild der Culturen war wie folgt: in den ersten Tagen fand man auf Agar kurze Stäbchen, die auffallend an Kokken erinnerten. Nach 3 Wochen traf man in den Bouillonculturen eine filzige Masse, die aus dentritisch verästelten kurzen Fäden mit chromatinen Körnern bestand, an; $1^1/_2$ Monate später waren in diesen Culturen auch sehr lange Fäden ausgewachsen. Die Mikroben von Kischensky, M. Wolff, J. Israël und Ebermann färbten sich nach Gram. Diese Mikroben unterscheiden sich strict durch ihre äussere Form und durch das mikroskopische Bild der Colonieen vom wirklichen Strahlenpilz und, falls sie von Fällen mit den klinischen Erscheinungen der Aktinomykose nicht ausgeschieden worden wären, so wurden sie nicht als gewöhnliche Strahlenpilze angesprochen.

In der Folge zeigte es sich, dass man neben diesen sogenannten polymorphen Strahlenpilzen bei der Aktinomykose des Menschen und der Thiere verschiedene Arten des wirklichen Strahlenpilzes antraf, welche nicht nur in den Geweben, sondern auch — und das ist die Hauptsache — auf den künstlichen Nährböden Colonieen mit ramificirenden und vom Centrum radienförmig divergirenden Fäden bildeten. Diese Pilze sind von verschiedenen Autoren verschieden benannt worden: Aktinomyces, Cladothrix, Streptothrix, Oospora, Nocardia; für die allerzutreffendste Benennung halten wir in Uebereinstimmung mit Gasperini (7) (1894) die zuerst angeführte, wenngleich die Strahlung nicht als charakteristisches Kennzeichen nur ausschliesslich diesen Pilzen zukommt, sondern überhaupt den niederen Schimmelpilzen, zu deren Gruppe auch das Actinomycesgenus gehört, eigen ist.

Es ist bekannt, dass die Repräsentanten dieser Art von Pilzen in einigen Fällen, sei es in Folge inopportuner Assimilationsfähigkeit den neuen Bedingungen ihres Saprophytismus gegenüber, sei es in Folge degenerativer Veränderungen im Organismus, sich, von Thieren gewonnen, nur schwer züchten lassen; in anderen Fällen erhält man sie sehr leicht, wobei die einen Abarten besser unter den Bedingungen der Aërobiose, die anderen dagegen unter denjenigen der Anaërobiose gedeihen.

Auf Grund der heutzutage vorhandenen bakteriologischen Befunde über die Strahlenpilzkrankheit muss man zugestehen, dass Actinomyces hominis et bovis nur Collectivbegriffe sind; die Aktinomykose wird bedingt durch verschiedene Abarten des Strahlenpilzes und ein, und dieselbe Abart kann sowohl beim Menschen als auch beim Rinde auftreten; aus diesem Grunde sind diese Termini technici aufzugeben und durch andere zu ersetzen: Actinomyces albus, sulfureus, luteo-roseus etc.



Die Vertreter des Genus actinomyces sind in der Aussenwelt weit verbreitet; ihre Sporen sind besonders häufig auf Gräsern. Eine erhärtete Thatsache ist es, dass das Einspiessen von Aehrenpartikelchen am allerhäufigsten zur Infection mit diesen Pilzen führt. Nach unseren eigenen Beobachtungen (8) ist es sehr leicht, die Anwesenheit von Strahlenpilzen an trockenen Gräsern nachzuweisen: wenn man Heu, Aehren oder trockenes Stroh mit sterilisirtem Wasser anfeuchtet, so sieht man in einigen Tagen oder noch früher bei Thermostatbehandlung, dass sich jedes Hälmchen u. s. w. mit weisslichen oder anders nuancirten, pulverisirter Kreide ähnlichen Vegetationen (vgl. Taf. I, Fig. 6), die hauptsächlich aus Pilzsporen und ramificirenden Fädchen bestehen, bedeckt. Selbstverständlich, dass unter diesen Bedingungen auf den angeführten Gräsern sich ebenfalls verschiedene andere Schimmelpilze bilden; beobachtet man jedoch folgendes Verfahren, so kommen ausschliesslich Colonieen vom Strahlenpilz zur Entwickelung. In eine grosse gläserne Doppelschale, die man gewöhnlich für Kartoffelnährböden benutzt, schüttet man eine $1^1/_2$ bis 2 Finger hohe Sandschicht, befeuchtet dieselbe mässig mit gewöhnlichem oder destillirtem Wasser, schliesst darauf die Schale und bringt sie $^1/_2$ Stunde bei 120° behufs Sterilisirung in den Autoclaven. Nachdem der Sand sich abgekühlt, spiesst man auf $1^1/_2$ bis 2 Finger breit von einander senkrecht abstehende, 3 bis 6 cm lange Partikelchen Stroh u. s. w. ein;[1] die Schale wird hierauf geschlossen und in den Brutschrank gebracht; täglich werden mit einer Pincette diejenigen Strohhälmchen, auf welchen sich gewöhnliche Schimmelpilze entwickelt haben, entfernt. Auf solche Weise kann man nach Ablauf von $1^1/_2$ bis 2 Wochen einige Hälmchen, die ausschliesslich mit Vegetationen von Strahlenpilzen bedeckt sind, erhalten. Es gelang uns, beim Innehalten dieses Verfahrens bei Gräsern 5 Varietäten des Strahlenpilzes: Actinomyces graminearum I, II, Actinomyces cinereo-niger aromaticus, Actinomyces violaceus und Actinomyces albido-fuscus, zu erhalten.[2]

Andererseits, wenn wir auf feuchte, vorher sterilisirte Aehren, Stroh, Heu u. s. w Strahlenpilze, die gewöhnlichen künstlichen Nährböden entnommen waren, auftrugen, so gediehen auf den ersteren die Actinomycespilze in Form einer weissen, kreideartigen Membran.

Die ausgiebige Verbreitung dieser Pilze in der Aussenwelt und im Speciellen das Vorhandensein einer nicht geringen Zahl dieser Pilzkeime auf trockenen Gräsern, deren Rolle in der Aetiologie der Aktinomykose

[1] Das Stroh ist selbstverständlich mit sterilisirter Scheere und das Einspiessen mit sterilisirten Pincetten ausgeführt.

[2] Zweifelsohne, dass man auf diese Weise noch eine Menge anderer Abarten gewinnen kann, aber der Nachweis derselben wurde für die nachstehende Arbeit ausser Acht gelassen.

durch zahlreiche Beobachtungen vollkommen sicher gestellt ist, berechtigt zur Annahme, dass die allergrösste Zahl der Fälle, die unter dem Bilde der Aktinomykose verläuft, ihre Entstehung den Vertretern des Genus Actinomyces zu verdanken hat. Mithin, wenn man die Aetiologie als die einzig rationelle Basis für die Classification der Infectionskrankheiten annimmt, so gelten als Aktinomykose solche pathologische Processe, die durch eine Infection des Organismus mit Pilzen des Genus Actinomyces veranlasst sind.

Wenn man als Grundlage der Classification das ätiologische Element zulässt, so müssen als Aktinomykose solche krankhafte Formen, die beim Menschen von Eppinger (9), Sabrazès et Rivière (10), von mir (8), von Lubimow (8), H. Buchholz (11), bei Hunden von Rabe (12) und den sogenannten farcin du boeuf von Nocard (13) studirt worden, bezeichnet werden.

Diese Erkrankungen sind vom klinischen und pathologisch-anatomischen Standpunkte aus identisch mit der (typischen) Aktinomykose; es fehlt bei ihnen nur die Bildung in den afficirten Geweben der für die Aktinomykose (typische) charakteristischen Körnchen; auf künstlichen Nährböden — und das ist die Hauptsache — besitzen sie alle: Actinomyces Eppingeri s. Cladothrix asteroides, Actinomyces Sabrazès et Rivieri, sowie auch Actinomyces farcinicus, die Eigenschaften der Strahlenpilze.

Zum Unterschiede von der Aktinomykose mit Körnern im Eiter und in kugelförmigen Gebilden in den Geweben, d. h. nach unserer Nomenclatur (8), von der „typischen Aktinomykose", würden wir für die letzteren pathologischen Processe die Benennung „atypische Aktinomykose" vorschlagen.

Andererseits, wie schon früher angeführt, werden viele andere Krankheitsformen, die dem Verlaufe und dem klinischen Bilde nach an die typische Aktinomykose erinnern, durch andere Mikroorganismen bedingt. Scheidet man sie in die gemeinsame Gruppe der Pseudoaktinomykose aus, so lassen sich in diese Gruppe Fälle, welche durch verschiedenartige Bakterien, die nach Gram nicht tingirbar (Fälle von Poncet-Dor [14], Sawtschenko [15], und Tschteglow [16]), bedingt sind, wo der Parasit in den Geweben Klümpchen oder Körner, die den aktinomykotischen dem Anscheine nach identisch sind, sich aber von ihnen durch das Fehlen der strahlenförmigen Anordnung und die Abwesenheit der kolbenförmigen Gebilde an der Peripherie der Körner unterscheiden, zusammenfassen.

Neben solchen Fällen trifft man nicht selten auch andere an, die mit allen Symptomen der typischen Aktinomykose verlaufen und wo man sowohl in den Geweben als auch im Eiter kugelförmige Gebilde des Parasiten, durch Verfilzung fadenartiger, zuweilen verästelnder Formen



gebildet, die sich nach **Gram** tingiren, mit radiär angeordneten keulenförmigen Verdickungen an der Peripherie oder ohne dieselben, nachweisen kann. Bei Aussaat aus solchen Körnern lassen sich verschiedenartige Mikroorganismen, die nichts Gemeinsames mit dem Strahlenpilz haben, züchten. Solche Mikroben sind von Kischensky, M. Wolff, J. Israël, Ebermann, sowie zwei von uns (8) beobachtete, beschrieben.

Diesen sind noch zwei Mikroben, die weiter unten beschrieben werden sollen, zuzuzählen.

Im Falle von Mosselmann et Liéneaux (17), sowie in einem der unseren (8) erhielt man Culturen eines Mikroben, der ausschliesslich in Bouillon gedieh und in Form von kugeligen, undurchsichtigen, brüchigen Gebilden, die dem Aussehen nach sich durchaus von den Culturen des Strahlenpilzes unterschieden, auftrat. In der Aussaat büsste der Parasit schnell die fadenförmige Gestalt ein und zerfiel in kokkenartige Formationen, die sich nach **Gram** färbten. In beiden Fällen verloren die Culturen nach 3 Monaten die Fähigkeit des Ueberimpftwerdens.

Das eigenartige, den Strahlenpilzen nicht zukommende Wachsthum, und zwar ausschliesslich in Bouillon, lässt desgleichen die Zugehörigkeit dieser Mikroben zum Genus Actinomyces bezweifeln.

Im Jahre 1897 gelang es uns (8), aus einer Lippengeschwulst eines Rindes, die den Symptomen nach der Strahlenpilzkrankheit entsprach, einen Pilz, den wir als Coccobacillus pseudoactinomycosis pleomorphus beschrieben, nachzuweisen. Er tingirte sich nach **Gram** und gedieh in den gewöhnlichen Nährböden (Agar, Bouillon) in Form von kokkenartigen Gebilden und sehr kurzen, unregelmässigen Stäbchen, wuchs aber in rohem Eidotter und in Bouillon, die mit nicht weniger als $^1/_{10}$ Volumen von Eidotter[1] beschickt war, in Form von ziemlich langen Fäden, die in ihrem Verlaufe und an den Enden Anschwellungen aufwiesen und zuweilen verästelt waren. Klümpchen dieses Mikroben, aus Bouillon mit Eidotter stammend, erinnerten theilweise mit Rücksicht auf die Anordnung der Fäden an Colonieen des Strahlenpilzes.[2]

In den letzten Monaten hatten wir Gelegenheit, noch einige Fälle von Strahlenpilzkrankheit bei Menschen und Thieren zu beobachten und bei zwei von diesen, welche unter dem ausgesprochenen Bilde der typischen Aktinomykose verliefen, trafen wir einen Parasiten, der folgende Eigenschaften aufwies, an: Im ersten Falle (zugesandt aus der chirurgischen Poliklinik der DDr. Postnikoff und Ssumarokoff) constatirten wir in einem subperiostalen Unterkieferabscess einer Frau nicht sehr brüchige,

[1] D.h. auf einem lecithinhaltigen Substrat wohl unter dem Einfluss dieser Substanz.

[2] Der vollständige Cyklus der Metamorphosen dieses Pilzes findet sich in den Photographieen unserer Dissertation abgebildet.

weisslich-gelbliche Körnchen, im Durchschnitt etwa von Mohnkorngrösse. Diese Körnchen bestanden aus hie und da ramificirenden, geraden und geschlängelten Fäden, die sich nach **Gram** tingirten; die kolbenförmigen Endauftreibungen dagegen färbten sich nach dieser Methode nicht; nach sorgfältigem Durchspülen mit sterilisirtem Wasser brachte man diese Körnchen auf feste Nährböden (verschiedene Arten von Agar und coagulirtes Blutserum), wo sie geringe Vegetationen ringsum von nicht fester Consistenz, milchartiger Farbe, mit kurzen Fortsätzen nach innen ergaben; die Verbindung der Colonieen mit dem Nährboden war keine feste. Auf Gelatine und Kartoffeln gedieh der Parasit nicht. In Bouillon erhielt man auf dem Boden der Eprouvette weissliche, undurchsichtige, ziemlich brüchige Körnchen; die Bouillon hatte einen unangenehmen Geruch; in derselben cultivirte der Pilz sich am besten und zog ein anaërobes Wachsthum dem aëroben vor. Die Bouillonculturen liessen sich im Laufe von $2^1/_2$ Monaten überimpfen. Das mikroskopische Bild der Präparate aus den Körnchen und Culturen von diesem Fall war vollkommen identisch mit demjenigen, welches wir beim Untersuchen des zweiten Falles, dessen Beschreibung sogleich folgt, erhalten hatten.

Patient A.,[1] ein abgemagertes, decrepides Individuum, 16 a. n., Schuster, trat am 27. X. 1897 in die therapeutische Klinik des Neuen Catharinen Spitals (Director Prof. Dr. K. Pawlinow) mit Klagen über rechtes Seitenstechen, Athemnoth, Husten und Herklopfen. Beim Aufnehmen der Anamnese wurde festgestellt, dass Patient am 20. VI. 1897 nach einer Erkältung heftige Schmerzen in der rechten Brusthälfte verspürte, an welche sich Dyspnoë und Herzklopfen anschlossen; Patient begann rapide abzumagern. Status praesens: Oedem der rechten Thoraxhälfte vorn; unterhalb der rechten Brustwarze eine kleine schmerzhafte Anschwellung von der Grösse etwa eines kupfernen Fünfkopekenstückes, die Hautdecken über dieser Anschwellung sind geröthet; keine Fluctuation; Intercostalräume rechts verstrichen; diese Thoraxhälfte ist hervorgewölbter als links. Percussion: Rechte Lunge: hinten von der Mitte der Scapula und vorn von der 3. Rippe an nach unten bestehen Dämpfung und aufgehobenes Athmungsgeräusch. Linke Lunge: hinten vom Winkel der Scapula nach unten zu Schall gedämpft und abgeschwächtes Athmungsgeräusch; in beiden Spitzen rauhes Vesiculärathmen; im Bereiche der rechten Brustwarze Crepitation. Oberhalb des rechten Dämpfungsbezirkes Bronchialathmen, wogegen links verschiedenes mittelblasiges Rasseln wahrnehmbar war. Bei der Probepunction rechts, im Dämpfungsbezirke

[1] Die Krankengeschichte ist uns freundlichst vom Ordinator der Klinik, Hrn. Collegen Jemeljanow, überlassen worden.



ausgeführt, erhielt man ein seröses Exsudat, das keinerlei Mikroben enthielt. Die obere Lebergrenze confluirte mit der Lungendämpfung, die untere stand in der Mittellinie etwa 2 Finger breit über der Nabelhöhe. Leberoberfläche glatt, consistent und etwas druckempfindlich. Milz von der 8. bis 10. Rippe percutirbar. Herzictus auf der Mamillarlinie palpabel; auf der Mitte des Sternums und an der Herzspitze ist der zweite Ton gespalten. Pulsfrequenz etwa 90, von mittlerer Füllung und Spannung. Die Temperaturschwankungen während des Aufenthaltes in der Klinik waren Abends zwischen 38·2 und 38·5°, Morgens zwischen 36·8 und 37·3°.

Bei Verwendung von Vesicantien und Priessnitz kam das Exsudat im Laufe von 3 Wochen zum Schwund, wogegen die anderen pathologischen Lungenbefunde in statu quo ante verblieben. Man ordinirte: Bettlage, Arsen und Jodkali. Das Infiltrat unterhalb der rechten Brustwarze begann allmählich sich zu erweichen, an Umfang zuzunehmen, die Hautdecken wurden röther, es stellte sich deutliche Fluctuation ein, weshalb am 18. XI. 1897 dasselbe incidirt und curettirt wurde, wobei man zwischen der 5. und 6. Rippe einen Fistelgang, der in die Pleurahöhle führte, constatirte; Tamponade mit Jodoformmarle zum 21. XII. 1897 (am Tage des Austrittes des Patienten aus dem Krankenhause) hatte der Gang sich fast ganz geschlossen. Am 28. XII. 1897 verschied Patient zu Hause plötzlich.

Aus dem aseptisch incidirten Infiltrat erhielt man eine dickflüssige, breiige Masse, die sofort in sterilisirte Pipetten aufgefangen wurde. Sie bestand aus dickem blutigen Eiter, der eine bedeutende Menge von kleinen, nicht sehr brüchigen, weisslich gelben Körnchen im Durchschnitt von der Grösse eines Stecknadelkopfes und unregelmässiger, kugelförmiger Formation enthielt. Die nach Gram tingirten Präparate aus diesem Eiter zeigten verschieden lange, hier und da ramificirende, gerade und gewundene Fäden, im Durchschnitt 0·6 μ breit (vgl. Taf. I, Fig. 1); viele Kolben färbten sich mit der Ergänzungsfarbe, d. h. mit Eosin. Auf den Schnitten aus diesem Eiter und aus den ausgelöffelten Granulationen, die sofort nach der Operation durch Sublimat fixirt und darauf mit der von uns schon seit 1893 für solche Zwecke zur Anwendung kommenden Färbung nach Biondi-Heidenhain, nahm man Körnchen mit keulenförmigen Verdickungen an den Enden wahr (vgl. Taf. I, Fig. 4 und 5); die Keulen tingirten sich mit saurem Fuchsin roth; im Centrum dieser Körnchen, beim Färben der Schnitte nach Gram, fand man lange, gerade und gewundene, zuweilen sich verästelnde Fäden; in den meisten Präparaten waren die Keulen ebenfalls auf diese Weise gefärbt. Andere Mikroben liessen sich im Eiter nicht nachweisen. Die im Eiter gefundenen Körnchen



wurden auf verschiedene Nährböden gebracht. Auf Agar (einfacher Glycerin- und Zuckeragar) und coagulirtem Blutserum begannen nach zwei Tagen bei einer Temperatur von 36 bis 38° rings um die Körnchen sich weissliche, undurchsichtige, ziemlich brüchige Vegetationen mit kleinen Fortsätzen nach der Tiefe des Mediums auszubilden. Das Wachsthum war ein sehr langsames und nach Verlauf von 2 Wochen bei Thermostataufenthalt nahm der Umfang der Körnchen nicht mehr als das 2- bis $2^1/_2$ fache der ursprünglichen Grösse an. Auf Gelatine und Kartoffeln gelang es den Parasiten nicht zu züchten. In Bouillon gedieh der Pilz üppiger als auf festen Nährböden; in ersterer vergrösserten sich die Körnchen nach Ablauf von 2 Tagen bei einer Temperatur von 36·0 bis 38·0° um das Zweifache, nach einer Woche erreichten sie die Grösse eines Hanfkorns, waren von weisslicher Farbe, undurchsichtig, ziemlich brüchig, beim Schütteln schieden sie Flocken ab, welche mit dem unteren Theile zu Boden der Eprouvette glitten. Die Bouillon hatte einen unangenehmen, eigenthümlichen Geruch, ganz wie im ersten Falle. Unter den Bedingungen der Anaërobiose wuchs der Pilz nicht besser als bei Anwesenheit von Sauerstoff der Luft. Die zweite Generation des Pilzes zeigte ein schwächeres Wachsthum; eine dritte entwickelte sich gar nicht. Ein Hinzusetzen von rohem Eidotter zur Bouillon, sowie das Cultiviren des Parasiten in rohem Eidotter blieb ohne jeglichen Einfluss auf sein Wachsthum.

Culturen auf festen Nährböden bestanden aus ca. 0·6 μ breiten Stäbchen von verschiedener Länge, deren Mehrzahl im Durchschnitt 1·5 bis 3·0 μ lang waren; ein Ende derselben war gewöhnlich etwas breiter als das andere. Unter den aus der ersten Generation des Pilzes angefertigten Präparaten kamen Stäbchen mit knopfförmigen Verdickungen an einem Ende vor, sowie auch lange, gewöhnlich sich nicht verästelnde Fäden, die an Breite $1^1/_2$- bis 2fach diejenige der kurzen Stäbchen übertrafen (vgl. Taf. I, Fig. 2); diese Fäden stellten allem Anscheine nach einen Bestandtheil der auf einen Nährboden überpflanzten Körnchen dar. Die Bouillonculturen bestanden aus 4 bis 6 μ im Durchschnitt langen Stäbchen; auch kürzere Exemplare waren anzutreffen, desgleichen Fäden von 10 bis 15 μ Länge; Stäbchen, die in Bouillon gediehen, waren oft von ungleichmässiger Dicke, jedoch etwas dünner, als diejenigen, welche auf festen Nährböden cultivirt wurden (vgl. Taf. I, Fig. 3). Diese Bakterien mit Löffler'scher Methylenblau- oder mit schwach wässeriger Fuchsinlösung tingirt, färbten sich nicht gleichmässig; in dem schwach gefärbten Protoplasma traf man 2 bis 4 intensiv tingirte Körnchen an.

Wir erhielten somit in diesen beiden Fällen Erkrankungen beim Menschen, die unter dem typischen Bilde der Actinomycosis hominis verliefen, aus den Körnchen eigenartige Culturen eines Parasiten, der nichts



Gemeinsames mit dem Strahlenpilze hatte; der Unterschied bestand nur darin, dass im ersten Falle (Fall von Postnikoff und Ssumorakoff) der Pilz die Anaërobiose der Aërobiose vorzog und lebensfähiger war (beide Culturen waren nicht pathogen Kaninchen, Meerschweinchen und weissen Mäusen gegenüber).

Der dritte Fall, welcher unter den Symptomen einer typischen menschlichen Lungenaktinomykose verlief, dessen Erreger ebenfalls ein Pilz, der nicht dem Genus Actinomyces zugehörig war, ist folgender.

Th., Zimmermann, 44 a. n., kam in die chirurgische Klinik des Neuen Catharinen-Spitals (Director Prof. Dr. C. Klein) am 10. III. 1898 mit folgendem Befund[1]: Etwa 2 Finger breit unterhalb der rechten Brustwarze, auf dem Sternum im Niveau der Brustwarze und am unteren Ende derselben befindet sich ein diffuses, cyanotisch roth gefärbtes Infiltrat mit mehreren Fistelgängen, aus denen sich flüssiger, blutiger Eiter, der eine Menge kleiner Körnchen enthält, ausscheidet. Patient hustet viel und expectorirt reichlich eitriges, leicht blutig gefärbtes, desgleichen solche Körnchen enthaltendes Sputum. Patient ist stark abgemagert, sehr dyspnoëisch, klagt über grosse Schwäche und Unmöglichkeit zu arbeiten. Den Beginn des jetzigen Leidens verlegt Patient auf den Herbst 1896 zurück, als sich bei ihm starker Husten mit reichlichem Auswurf und heftiges Seitenstechen einstellten. Zur Betäubung der Schmerzen begann Patient täglich $^1/_2$ Liter Schnaps zu trinken; zu jener Zeit will er kein Fieber wahrgenommen haben. Im Frühjahr 1897 färbte das Sputum sich blutig, das Allgemeinbefinden verschlimmerte sich bei Weitem, die Brustschmerzen nahmen zu und er sah sich genöthigt, seine Arbeit einzustellen. Im December 1897 trat eine Schwellung unterhalb der rechten Brustwarze auf, die Haut über derselben begann sich zu röthen, es bildeten sich Fisteln, die einen blutigen Eiter secernirten. Um diese Zeit ungefähr begann der Kranke dann und wann zu fiebern. Im August 1897 entstand auf dem rechten Oberschenkel ein Abscess, der ein nicht schliessendes Geschwür mit unterminirten Rändern hinterliess. Beim Sondiren der Fistelgänge gelangt man nicht in die Brusthöhle. Bei der Percussion erhält man rechts vorn und hinten dumpfen Schall und Bronchialathmen; in der linken Lunge stellenweise feuchtes Rasseln; die linke Lungenspitze ist gedämpft und ergiebt abgeschwächtes Athmungsgeräusch. Puls frequent schwach. In der Klinik ergaben die Temperaturmessungen des Abends Schwankungen von 37·8 bis 38·2°, des Morgens von 36·3 bis 37·3°. Ordination Jodkali 1·5 kis 2·0 pro die, Codeïn, Excitantien.

[1] Die Krankengeschichte ist uns freundlichst vom Ordinator der chirurgischen Klinik, Hrn. Collegen C. C. Iwensen, überlassen worden.



In den ersten Tagen seines Aufenthaltes in der Klinik begann Patient sich bei Weitem besser zu fühlen; die Schmerzen in der Brust und der Husten nahmen ab. Am 17. III. wurde die Auslöffelung des Infiltrates auf dem Thorax und des Geschwürs am rechten Oberschenkel[1] vorgenommen und ein Jodoformverband applicirt; es bildete sich nur langsam Granulationsgewebe.

Der weitere Verlauf war wie folgt: Von Neuem stellten sich in der Brust heftige Schmerzen, die jegliche Bewegungen inhibirten und Percussion und Auscultation des Patienten unmöglich machten, ein; zeitweise stieg die Temperatur von 38.0 bis 39.0° an, die Wunden schlossen sich nicht und die Fistelgänge der Brust secernirten Eiter, der Körnchen enthielt; der Kranke hustete stark und expectorirte reichliches, blutig-eitriges Sputum mit einer Menge von Körnchen. Am 25. V. 1898 Exitus.

Sectionsprotocoll: Stark abgemagerte Leiche; vorn an der Brustwand, im Bereiche der Warze, befindet sich ein mit unterminirten Rändern handtellergrosses Geschwür, von welchem zwei Fistelgänge unter der 5. und 6. rechten Rippe sich hinziehen; beim Druck auf die Wandungen der Fisteln scheidet sich dünnflüssiger Eiter, der viele Körnchen enthält, aus. Beim Entfernen der vorderen Thoraxwand bricht das Sternum im oberen Drittel ab, da dasselbe von hinten her durch Caries bedeutend verdünnt gewesen; desgleichen waren die 5. und 6. Rippe vorn und die 2. und 3. Rippe hinten stark usurirt. In der rechten Pleurahöhle befand sich etwa ein Glas dünnflüssigen, viel Körnchen enthaltenden Eiters. Der rechte Oberlappen ist mit den Rippen verwachsen, Pleura stark verdickt und mit fibrinösen Auflagerungen bedeckt; in der Lunge viel Bindegewebszüge, Peribronchitis, Bronchitis purulenta und kleine bronchopneumonische Herde. In der linken Pleurahöhle, entsprechend dem linken Oberlappen, eine abgesackte hämorrhagische Pleuritis. Der linke Unterlappen ist ödematös und mit der bedeutend verdickten Pleura überzogen. Im Pericard etwa ein Glas hämorrhagischen Exsudats, Pericarditis fibrinosa (cor villosum), Dilatatio cordis et Degeneratio adiposa myocardii, Degeneratio parenchymatosa renum, Hepar moschatum, Oedema piae cerebralis summa.

Wie bereits oben angeführt, expectorirte Patient grosse Mengen eines dickflüssigen, eitrigen, mit Blut vermengten Sputums. In dem letzteren fand man zahlreiche, weisslich-matte, kugelförmige Körnchen, von denen ein grosser Theil etwas umfangreicher als eine Stecknadelspitze war; zuweilen traf man Körnchen, die grösser waren, an: von Stecknadelkopf- bis Mohnkorngrösse; diese Körnchen liessen sich leicht beim Auseinanderzupfen des Sputums auf einem Glase mit schwarzem Boden con-

[1] Im Secrete des Geschwüres fanden sich bloss die gewöhnlichen Eitererreger.



statiren.[1] Beim Zerdrücken dieser Körnchen zwischen Objectträger und Deckgläschen sah man unter dem Mikroskop glänzende, keulenförmige Formationen an der Peripherie und verfilzte Fäden im Centrum. Solche Körnchen waren sehr zahlreich im Eiter des Fistels anzutreffen.

Beim Färben nach Gram, wobei die Körnchen vorher peinlichst zum Befreien von Sputumpartikelchen und Eiter mit sterilisirtem Wasser durchgespült wurden, sah man etwa $0 \cdot 25\,\mu$ breite, dünne, unregelmässige, gewöhnlich gewundene, kurze Fäden und Stäbchen von verschiedener Grösse; die meisten hatten eine Länge von ungefähr 3 bis 5 μ, man nahm aber auch kürzere als auch, zwar nur selten, längere Fäden, ca. 10 bis $15\,\mu$ betragende, wahr (vgl. Taf. II, Figg. 1 und 2). Zuweilen waren auch ramificirende Formen vorhanden.

Da die Präparate durch Zerreiben (wenngleich mit grosser Vorsicht) der Körnchen auf Deckgläschen angefertigt wurden, so sind zweifelsohne die kürzeren Exemplare, wenigstens theilweise, aus längeren durch Zerbröckeln entstanden. In diesem Falle unterschieden die Kolben sich dadurch, dass sie beim Färben nach Gram gewöhnlich hauptsächlich in den Schnitten sich schwerer entfärbten beim Behandeln mit Alcohol absol. und Aceton. In solchen Präparaten traf man gewöhnlich Kolben, die sich gut mit Gentianaviolett tingirten, an (vgl. Taf. II, Figg. 6 und 7).

Bei einem länger währenden Entfärben der Präparate büssten die Kolben jedoch ihre Farbe ein, wogegen die Stäbchen und Fäden nach Gram sich gut tingirten (vgl. Taf. II, Fig. 8).

In den Schnitten aus dem Sputum und den am 17. III. 1898 ausgelöffelten Granulationen bei Anwendung des Biondi-Heidenhain'schen Verfahrens sah man Körnchen von verschiedener Grösse und an der Peripherie mit Fuchsin gut gefärbte Kolben (vgl. Taf. II, Figg. 3 und 4); dieselben waren 5 bis $10\,\mu$ lang und $1 \cdot 5$ bis $3\,\mu$ breit. An den Schnitten, mit Pikrocarmin und darauf nach Gram gefärbt, sah man deutlich, dass die Körnchen im Centrum aus einer Verfilzung kurzer Fäden, die sich zuweilen verästelten, bestanden (vgl. Taf. II, Figg. 6, 7 und 8); in grösseren Körnchen der centralen Theile nahm man Degenerationsvorgänge wahr; die Körnchen waren stellenweise schlecht oder gar nicht tingirt und in ihrem Inneren bemerkte man Leukocyten (dieselben Befunde lagen auch im vorhergehenden Falle vor).

Die Körnchen aus dem Sputum und den ausgelöffelten Granulationen wurden sorgfältig mit sterilisirtem Wasser durchgespült und alsdann auf verschiedene Nährböden übertragen; desgleichen wurden sie auch zu Platten

[1] Bei Ausserachtlassen dieser Maassregel können die Actinomyces- u. Pseudoactinomyceskörnchen im Sputum leicht übersehen werden.



ausgegossen. Nach 2tägigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37·0° konnte man sich davon überzeugen, dass die Körnchen etwa $1^1/_2$ Mal an Umfang zugenommen hatten. Auf der Oberfläche des Agar (als besonders günstiges Medium erwies sich 4 procent. Glycerinagar, sowie auch Gelatineagar) erhielt man ebensolche brüchige, oberflächliche Vegetationen rings um die Körnchen, wie wir sie in den zwei früheren Fällen beobachtet hatten. In Bouillon jedoch sah man ausser sich entwickelnden grossen Körnchen in den darauf folgenden Tagen weissliche, staubförmige, undurchsichtige Klümpchen, die sich auf den Boden und an die Wände der Eprouvetten angelegt hatten; in den nächsten Tagen nahmen sie an Umfang zu und erreichten fast die Grösse eines kleinen Stecknadelkopfes (vgl. Taf. II, Figg. 13 und 14). Die ganze Zeit hindurch trübte die Bouillon sich nicht; nach 1 bis $1^1/_2$ Woche jedoch, bei Thermostataufenthalt, schien die Bouillon im ersten Augenblick getrübt, was vom üppigen Wachsthum der an den inneren Flächen der Eprouvetten sich befindlichen Vegetationen, wodurch die Wände undurchsichtig wurden, abhing. Solche Eprouvetten konnte man umdrehen, ohne dass die Colonieen des fest den Wänden anhaftenden Parasiten sich vom Glase losgelöst hätten (vgl. Taf. II, Fig. 14). An der Bouillonoberfläche liess sich ein Wachsthum des Mikroben niemals nachweisen.

Beim Ausgiessen zu Agarplatten und Bewahren vor Austrocknen erhielt man folgendes Wachsthum: Auf Agar nahm man bei nicht starker Vergrösserung nach Ablauf von 2 bis 3 Tagen kleine, isolirte, scharf begrenzte, kugelförmige, feinkörnige, grau-weissliche Colonieen mit feuchter, glänzender Oberfläche wahr; im Centrum einer jeden Colonie sah man deutlich ein scharf begrenztes, rundlich formirtes Körnchen und in einigen Colonieen radiäre Runzelungen (vgl. Taf. II, Fig. 15). Die Mehrzahl der Colonieen erreichte im Laufe von 3 bis 4 Tagen ihren Maximalumfang, d. h. Mohnkorngrösse, womit gewöhnlich ihre Entwickelung abschloss; nur wenige erlangten nach Ablauf von 1 bis 2 Wochen Stecknadelkopfgrösse und zuweilen noch mehr. Solche Colonieen büssten ihr centrales Fleckchen ein, wurden höckerig und erschienen im durchfallenden Lichte intensiv gelb. Die in der Tiefe des Nährbodens wachsenden Colonieen boten nichts Besonderes dar und entwickelten sich im Vergleich zu den oberflächlich wachsenden schlechter. Auf Kartoffeln war ein für's Auge wahrnehmbares Wachsthum nicht zu vermerken: nach 5 bis 7 Tagen wurde die Kartoffeloberfläche glänzend matt, wodurch sie sich eigentlich von der vom Mikroben freien Oberfläche unterschied. Auf Gelatine bekam man bei 20° ein kaum wahrnehmbares, äusserst langsames Wachsthum; die Gelatine verflüssigte sich nicht. Die Milch begann nach Ablauf von 3 bis 4 Wochen sich zu klären. Der Pilz entwickelte sich

auch anaërob, jedoch schlechter als bei Sauerstoffanwesenheit. Unter dem Mikroskop schienen die Bouillonculturen aus Mikroben zu bestehen, welche beim Tingiren mit gewöhnlichen Anilinfarben kokkenähnlich aussahen; hier und da traf man unter ihnen Exemplare an, die an kurze Stäbchen und zuweilen an etwas längere Bacillen erinnerten; ihre Breite betrug ca. 0·20 bis 0·25 μ. Beim Färben nach Gram schienen die Mikroben etwas grösser zu sein; an solchen Präparaten nahm man deutlich wahr, dass die Bouilloncultur in ihrer Hauptmasse kurze 1·5 bis 2·0 μ lange Stäbchen darbot (vgl. Taf. II, Fig. 11); hier und da traf man aufgetriebene Formen an. Hinzusetzen von rohem Eidotter zur Bouillon und Cultiviren von Mikroben in rohem Eidotter war für die Form des Pilzes belanglos.

Auf Agar (einfachem, auf Glycerin-, Zuckeragar und Agar mit menschlichem Blutserum) gedieh der Parasit in Form von kurzen, verschieden langen (im Durchschnitt ca. 3 bis 5 μ betragenden) Stäbchen von ungleichmässiger Dicke, an den Enden aufgetrieben und zuweilen gewunden. Mitunter waren etwas längere und ramificirende Formen vorhanden (vgl. Taf. II, Figg. 9, 10 und 12). Diese Bacillen entsprechen der Grösse und Form nach denjenigen Mikroben, welche in den Präparaten aus den Körnchen erhalten worden waren.

Das allergeeignetste Substrat zum Züchten des Mikroben ist die Bouillon, dann folgen Glycerinagar, Gelatineagar und Agar mit menschlichem Blutserum. Das Ueberimpfen des Mikroben gelingt gut. Inoculirte man Meerschweinchen und Kaninchen subcutan diese Mikroben, so entstanden sich langsam aufsaugende Infiltrate. Bei intraperitonealem Injiciren wurden keinerlei krankhafte Erscheinungen an den Thieren wahrgenommen.

Es gelang uns somit in drei Krankheitsfällen, die mit allen Symptomen der typischen Aktinomykose verliefen, zwei Mikroben nachzuweisen; sie sind keinem der schon beschriebenen ähnlich und unterscheiden sich so sehr von den Strahlenpilzen, dass wir sie als der Gattung dieser Schimmelpilze zugehörig nicht betrachten können. Noch in den beiden ersten Fällen bestanden die Körnchen aus ramificirten Fäden, welche an diejenigen der Aktinomykose erinnerten, die Cultur jedoch wies ein Wachsthum auf, das diesen Pilzen nicht entsprach und charakteristisch für Mikrophyten aus der Gruppe der Bakterien ist; im letzteren Falle konnten wir aber nicht lange, ramificirte, fadenähnliche Formen constatiren, sondern erhielten bei Weitem dünnere, kurze, meist nicht ramificirte, unregelmässige Stäbchen und kurze Fäden. In den Culturen aus diesem Falle gediehen Bakteriencolonieen, die vollständig denjenigen,



welche wir in den aus den Körnchen stammenden Präparaten gesehen hatten, glichen.

Aus der Beschreibung dieser Mikrophyten erhellt, dass man sie in Folge ihrer morphologischen Merkmale den Bakterien zuzählen muss.

Die von uns gezüchteten Bakterien lassen sich nicht nur auf Grund dessen, dass sie in den Geweben kugelförmige Gebilde mit kolbenartigen Enden, die an der Peripherie der Körnchen radienförmig angeordnet liegen, bilden, den Strahlenpilzen zurechnen, umsomehr, als in der letzten Zeit Beobachtungen von Friedrich (18), Babes und Levaditi (19) vorliegen, die darauf hinweisen, dass auch der Tuberkelbacillus[1] im Organismus (des Kaninchens) Gebilde, die den soeben beschriebenen identisch sind, produciren kann.

Mit Rücksicht auf das soeben Angeführte rechnen wir die drei beschriebenen Erkrankungsfälle der Gruppe der Pseudoaktinomykose zu.

Beim Verwenden von verschiedenen Färbungsmethoden für Schnitte aus mit Aktinomykose afficirten Geweben fanden wir unter Anderem, dass in sechs von uns untersuchten Fällen von Actinomycosis des Rindes in jungen, nicht verkalkten Actinomyceskörnchen die Kolben sich gut nach Ziehl oder nach den von Nicoll vorgeschlagenen Modificationen tingirten: man erhält eine intensive und haltbare Färbung der Kolben mit Fuchsin; den Grund tingirten wir mit Methylenblau oder Hämateïn (das letzte beim Färben nach Nicoll) (vgl. Taf. I, Figg. 7, 8 und 9). Diese Tingirmethode gelang uns in 5 Fällen von Aktinomyokse der Lymphdrüsen und in einem Falle von Lungenaktinomykose. Nach Gram färbten sich die Kolben in diesen Fällen nicht. Beim Färben der Schnitte unserer oben mitgetheilten Fälle fanden wir, dass im zweiten Falle zahlreiche Kolben sich sehr intensiv und haltbar nach Ziehl tingirten, aber nach der letzten sich gar nicht färbten, wofür im zweiten und dritten Falle die Kolben sich nur schwer beim Tingiren nach Gram in Alcohol absol. und Aceton entfärbten.

Der Umstand, dass der Tuberkelbacillus in Geweben aktinomykotische Formen anzunehmen befähigt ist, veranlasst uns, worauf wir bereits in unserer Dissertation hingewiesen, die Aufmerksamkeit der mit Aktinomykose sich Beschäftigenden darauf zu lenken, dass es Strahlenpilze giebt, die sich nach Ziehl färben (Actinomyces Sabrazès et Rivieri, Eppingeri et Nocardi).

Es ist die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, dass auch andere Pilze aus der Gruppe, welche eine atypische Aktinomykose er-

[1] Nach den jüngsten Untersuchungen von Ledoux-Lebard (20) ist der Erreger der Tuberculose ein Bacterium, das dem Genus Cladothrix nahe steht.



zeugen, sich nach dieser Methode färben. Sie tingiren sich nach Ziehl aus Culturen und Excreten von Kranken; sie vertragen kein Entfärben mit Alkohol, noch Verwendung von Schwefel- oder Salpetersäure. Das Tingiren derselben (Actinomyces Sabrazès et Rivieri, Farcinicus) in Geweben gelang nach Ziehl nicht. Andererseits fanden wir in vielen Fällen von Aktinomykose, dass die Kolben in den Geweben sich nach dieser Methode färben. Dieser Umstand erschwert nur auf Grund einer Färbung nach Ziehl die Differentialdiagnose zwischen der durch den Strahlenpilz bedingten Aktinomykose und denjenigen Aktinomykoseformen, die durch Tuberculose bedingt sind und auf deren mögliches Vorkommen bei Menschen und Thieren Babes und Levaditi hingewiesen haben.

Ausser den angeführten Fällen von Pseudoaktinomykose, die durch Bakterien, welche sich nach Gram färben, hervorgerufen sind, hatten wir Gelegenheit, auch einen Fall von Pseudoaktinomykose, der durch ein anaërobes, nach Gram nicht tingirbares Bacterium bedingt war, zu beobachten. Die Krankengeschichte der Patientin, die im Kinderhospital des heil. Wladimir von Dr. T. P. Krassnobajew beobachtet wurde, wird hier nur in ihrem wesentlichsten Theile wiedergegeben.

Die 5jährige N. N. kommt in's Kinderhospital am 7. I. 1898 mit den Symptomen einer rechtsseitigen Pleurapneumonie. Nach Angaben der Eltern ist Patientin sei einem Monat krank; Aufenthalt im Spital bis zum 18. II. 1898, wo sie etwas gebessert entlassen wird. Am 14. III. 1898 wiederum Aufnahme in's Spital mit den Erscheinungen derselben Pneumonie und einem tiefen Abscess an den Anheftungsstellen des 3., 4. und 5. Rippenknorpels. Am 20. III. Incision des Abscesses, wobei eruirt wird, dass die Abscesshöhle mit einer kleinen eitrigen Höhle in der Lunge communicirt. Resection der Rippen; weitere Behandlung nach gewöhnlichen Principien. Beim Incidiren des Abscesses wird etwa ein Glas dünnflüssigen, blutigen Eiters von einem eigenthümlichen aromatischen Geruch entleert. Im Eiter fand man eine grosse Menge von solchen Körnchen, die in nicht geringerer Zahl mit dem Sputum expectorirt wurden. Sputum vom selben Geruch wie der Eiter. Der Eiter wurde in einem sterilisirten Glasgefäss aufgefangen und sofort in's bakteriologische Institut zur Untersuchung übersandt. In diesem Eiter fand man zwei Arten von Körnchen: die einen von matt-weisslicher Farbe, nicht sehr fest, meist etwas kleiner als ein Mohnkorn; deren grösster Theil sich auf dem Boden der Eprouvette niederschlug; die anderen, von der Grösse eines Stecknadelkopfes, an der Oberfläche glänzend, von gelblich-weisser Farbe, brüchig, schwammen auf der Oberfläche des Eiters. Sie bestanden aus Krystallen von Fettsäuren und lösten sich unter Zusatz von Aether und Chloroform auf. Die ersteren stellten Gebilde eines eigenartigen

Mikroben vor und waren schon früher im Sputum der Patientin von Dr. Krassnobajew, der daraufhin schon damals die Diagnose „Pseudoaktinomykose“ gestellt hatte, nachgewiesen worden. Ausser diesem Mikroben waren keine anderen Bakterien im Eiter anzutreffen. Alle Versuche, den Parasiten auf den gewöhnlichen Nährböden unter den Bedingungen der Aërobiose und der Anaërobiose zu cultiviren, waren erfolglos. Am 16. IV. verschied Patientin unter den Erscheinungen der Pyämie. Die Autopsie ergab Folgendes: Die Oeffnung im Bereiche der resecirten Rippen führte in eine hühnereigrosse und nicht glattwandige Höhle der Lunge. In dieser Höhle fand man eine geringe Menge Eiter mit Körnchen. Rechte Lunge ziemlich fest mit der Pleura costalis verwachsen, Pleura an und für sich bedeutend verdickt; in der rechten Lungenspitze Caverne von Taubeneigrösse, nicht glattwandig; nebenbei befanden sich unter der bedeutend verdickten Pleura einige kleine, bronchopneumonische Herde mit eitriger Schmelzung im Centrum. Sonst überall in den Lungen bedeutende Bindegewebszüge (vergl. Taf. III, Fig. 2). Im linken Cavum thoracis fibrinöse diffuse Pleuritis; im linken Oberlappen unter der unbedeutend verdickten Pleura einige brochopneumonische Herde mit Schmelzungen im Centrum vom Umfange einer grossen Erbse; letztere überragen das Niveau der Pleura und unterscheiden sich von dem sie umgebenden Lungenparenchym durch einen gelblich-weissen Farbenton.

Milz vergrössert, zerfliesslich, Fettleber und -Herz, Degeneratio parenchymatosa renum, oberflächliche Ulcerationen im Larynx zwischen den Stimmbändern. Abscess in der hinteren Hälfte des Lobus occipitalis sinister, etwa hühnereigross, oberflächlich gelegen. Beim Eröffnen des Schädels platzte dieser Abscess; der dichte rahmähnliche Eiter wurde sofort in sterilisirte Pipetten, die zuvor in die Abscesshöhle eingeführt waren, aufgefangen; der Eiter hatte denselben Geruch wie das Sputum und derjenige aus dem Abscess an der Thoraxwand und enthielt weissliche Körnchen in bedeutender Anzahl. Den Eiter als auch die Lungen brachte man in mit Kartoffeln versehene sterilisirte Glasschalen und sandte sie sogleich nach Beendigung der Autopsie in's bakteriologische Institut, woselbst die Untersuchung vorgenommen wurde.

Im Eiter und in den bronchopneumonischen Herden beider Lungenspitzen fand sich nur eine Art von Mikroben, die in Form von Körnchen auftraten. In der geöffneten Caverne, sowie in derjenigen der rechten Lungenspitze wurden auch noch andere Mikroben gefunden. In den Ausstrichpräparaten aus den in sterilisirtem Wasser vorher sorgfältig durchgewaschenen Körnchen nahm man eigenartige, etwa $0{\cdot}25\,\mu$ breite und 4 bis $8\,\mu$ lange Stäbchen wahr, hier und da waren kürzere Formen anzutreffen; die letzteren hatten scharf begrenzte Enden, wogegen die



längeren zugespitzt endeten; diese Bakterien tingirten sich nicht nach Gram, wogegen die gewöhnlichen Anilinfarben sie schwach färbten; man sah in ihnen 2 bis 4 intensiv gefärbte sphärische oder ovale, symmetrisch angeordnete Körnchen. Die Aussaaten dieser aus dem Eiter des Hirnabscesses und aus den erweichten bronchopneumonischen Herden stammenden Körnchen auf verschiedene Nährböden gediehen bei Anwesenheit von Sauerstoff der Luft nicht; in den anaëroben Culturen dagegen auf Zuckeragar und in Bouillon, die mit Hydrocoelenflüssigkeit zu gleichen Theilen vermischt war, beobachtete man nach 2 Tagen bei 37° folgendes Wachsthum: in der unteren Hälfte des Agars, längs des Einstiches, entstanden weissliche Körnchen, die nach 4 bis 5 Tagen Stecknadelkopfgrösse erlangten (vgl. Taf. III, Fig. 4). In Bouillon gab der Pilz einen reichlichen, weissgefärbten, flockigen Niederschlag; in den Culturen bildete sich ein penetranter unangenehmer Geruch, der an denjenigen von Tetanusculturen erinnerte.

Dieser Pilz gab beim Ueberimpfen aus diesen Nährböden auf Zuckerbouillon und andere Substrate ohne Serumzusatz unter den Bedingungen der Anaërobiose ein üppiges Wachsthum, wobei er wahrscheinlich weniger empfindlich dem Sauerstoff gegenüber wurde. In den Culturen liessen sich ebensolche Stäbchen, wie man sie im Eiter gefunden, nachweisen (vgl. Taf. III, Figg. 5, 6 und 7); in den Bouillonculturen jedoch sah man nicht selten bis zu 50 μ lange, einige Chromatinkörnchen im Innern enthaltende Fäden.

In den aus Bouillonculturen vorsichtig angefertigten Ausstrichpräparaten nahm man wahr, dass der Parasit in Form eines Filzlagers, welches aus dicht mit einander verflochtenen Stäbchen bestand, gedieh (vgl. Taf. III, Fig. 5). Dieser Pilz, den wir Bacillus pseudoactinomycosis Krassnobajewi benennen wollen, verlor beim Nichtüberimpftwerden im Laufe von 2 bis 3 Wochen die Fähigkeit, weitere Generationen zu geben.

Bedeutende Mengen 4tägiger Agarculturen (Zuckeragar und Hydrocelenflüssigkeit āa) von der ersten Generation dieses Mikroben inoculirten wir subcutan, intraperitoneal und direct in die Lungen ohne jeglichen Erfolg Hunden, Kaninchen und Meerschweinchen; nur weisse Mäuse gingen in $1^1/_2$ bis 2 Wochen unter den Erscheinungen der Kachexie ein, wobei bei intraperitonealer Einverleibung man in der Bauchhöhle die Entwickelung incapsulirter Eiterherde rings um die Einstichstelle wahrnahm, wogegen beim subcutanen Inoculiren sich keinerlei Localerscheinungen nachweisen liessen. An aus der linken Lunge und aus der rechten Lungenspitze angefertigten Schnitten, welche man mit wässeriger Fuchsin- oder aber nach Nicoll mit Methylenblaulösungen tingirte und wobei als Ergänzungsfarbe Eosin benutzt wurde, konnte man schon mit unbewaffnetem



Auge deutlich rothe oder blaue Pünktchen wahrnehmen; bei schwacher Vergrösserung traten sie noch deutlicher hervor (vgl. Taf. III, Fig. 1). Sie entsprachen den Körnchenschnitten des Mikroben; bei starken Vergrösserungen sah man, dass von der Peripherie vieler Körnchen zu den sie umgebenden Leukocyten strahlenartige Gebilde verliefen; bei Doppelfärbung mit Eosin und Methylenblau unterschied man in diesen Strahlen blaugefärbte Bacillen und das mit Eosin tingirte, sie einhüllende zarte Gewebe; letzteres erinnerte an junges Bindegewebe; es umgab in dünner Schicht das Körnchen von allen Seiten, bildete die Hauptmasse der Strahlen und verschmolz mit dem das Körnchen umringenden Stroma (vgl. Taf. III, Fig. 3). Die centralen Theile der bronchopneumonischen Herde waren eitrig erweicht und enthielten grosse Anhäufungen des Parasiten (vgl. Taf. III, Fig. 1); in ihrer Peripherie waren gewöhnlich kleine Körnchen eingebettet.

In der Umgebung solcher bronchopneumonischer Herde bot die Lunge das ausgesprochene Bild einer croupösen Entzündung dar. Die die bronchopneumonischen Herde umgebende Pleura war entzündet, verdickt und mit Fibrinablagerungen bedeckt. Kurz gefasst, lag in diesem Falle das typische Bild einer Lungenaktinomykose mit einer Metastase im Gehirn vor, wobei diese Krankheit durch einen eigenthümlichen anaëroben Pilz, den Bacillus pseudoactinomycosis Krassnobajewi, bedingt war.

Aus dem oben Angeführten sind folgende Schlüsse zu ziehen erlaubt:

1. Die Aktinomykose ist eine Krankheit, welche bedingt ist durch Parasiten aus dem Genus Actinomyces, zu welchen wir nach dem Vorschlage von Gasperini ausser den unter diesem Namen beschriebenen Pilzen desgleichen die Mikrophyten Streptothrix, Oospora, Nocardia und einige unter dem Namen Cladothrix beschriebene rechnen.

2. Die als Futter dienenden Pflanzen bilden das hauptsächlichste Depot der Actinomycessporen.

3. Die Strahlenpilzkrankheit tritt auf als a) „typische" Aktinomykose, wie sie von Bollinger, O. und J. Israël, M. Wolff, Boström u. A. aufgefasst und beschrieben worden, und b) als „atypische" Aktinomykose ohne Körnchen im Eiter und ohne kugelförmige Anhäufungen des Parasiten in den Geweben; zu ihnen gehören die Fälle von Eppinger, Sabrasès et Rivière, sowie die von uns beobachteten, als auch andere.

4. Fälle von Pseudoaktinomykose, d. h. von solchen Krankheitsfällen, die mit allen Symptomen der typischen Aktinomykose verlaufen, lassen sich zweckmässig in zwei Gruppen unterbringen: a) in die erste gehören verschiedene Mikroben, die sich nach Gram färben; einige dieser Bakterien besitzen ähnlich dem Tuberkelbacillus die Fähigkeit, im menschlichen oder



thierischen Organismus sich zu mehr oder weniger langen, zuweilen sich verästelnden, mit keulenförmigen Auftreibungen an der Peripherie der Körnchen versehenen Fäden auszubilden; die Diagnosenstellung ist in diesen letzten Fällen nur durch eine ausgiebige bakteriologische Untersuchung möglich. b) Die zweite Gruppe der Pseudoaktinomykose ist bedingt durch verschiedenartige, nach Gram sich nicht färbende Bakterien, weshalb ihre Differentialdiagnose auf keinerlei Schwierigkeiten stösst.

5. Zum Tingiren der Drüsen in den Geweben bei typischer Aktinomykose können wir die von Biondi-Heidenhain in Vorschlag gebrachte Methode, sowie das Ziehl'sche Verfahren bei Actinomycosis des Rindes empfehlen.

Das Färben nach Biondi-Heidenhain ergiebt schöne Resultate auch in Fällen von Pseudoaktinomykose aus der ersten Gruppe.

Moskau, den 20. Mai 1898.



Litteratur-Verzeichniss.

1. O. Bollinger, Ueber eine neue Pilzkrankheit beim Rinde. *Centralblatt f. die med. Wissenschaften.* 1877. Nr. 27.

2. O. Israël, Ueber Cultivirbarkeit des Actinomyces. Virchow's *Archiv.* Bd. XCV.

3. Kischensky, Ueber Actinomycesreinculturen. *Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie.* 1889.

4. M. Wolff, Ueber Aktinomykose mit Demonstrationen. *Beilage z. Centralblatt für Chirurgie.* 1891. Nr. 26. — *Deutsche med. Wochenschrift.* 1894. Nr. 9. S. 208.

5. Aschoff, Ein Fall von primärer Lungenaktinomykose. *Berliner klinische Wochenschrift.* 1895.

6. Ebermann, Material zur Bakteriologie der Eiterung. *Dissertat.* St. Petersburg 1893. (Russisch.)

7. Gasperini, Versuche über das Genus Actinomyces. *Centralblatt f. Bakteriologie und Parasitenkunde.* Bd. XV.

8. N. Berestnew, Die Aktinomykose und ihre Erreger. *Dissertation.* Moskau 1897. (Russisch.)

9. H. Eppinger, Ueber eine neue pathogene Cladothrix etc. Ziegler's *Beiträge.* 1890.

10. Sabrazès et Rivière, Les parasites du genre Streptothrix dans la pathologie humaine. *La semaine méd.* 1895. Nr. 44.

11. Buchholz, Ueber menschenpathogene Streptothrix. *Diese Zeitschrift.* 1897.

12. Rabe, Ueber einen neuentdeckten pathogenen Mikroorganismus beim Hunde. *Berliner thierärztl. Wochenschrift.* 1888.

13. Nocard, Note sur la maladie des boeufs de la Guadeloupe, connue sous le nom de Farcin. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1888.

14. Dor, Une nouvelle mycose à grains jaunes etc. *Gazette hebdom. de méd. et chir.* 1896. — Poncet, Pseudoactinomycose cervico-faciale. *Arch. provinciale de chirurg.* 1897. Nr. 1.

15. Sawtschenko, Bacilläre Pseudoaktinomykose. *Russ. Archiv* von Podwyssotzki. 1896.

16. Tschteglow, *Medicinskoje Obosrenie.* (Russ.) 1897.

17. Mosselmann et Liénaux, L'actinomycose et son agent inféctieux. *Ann. de méd. véter.* 1890.

18. Friedrich, Ueber strahlenpilzähnliche Wuchsformen des Tuberkelbacillus im Thierkörper u. s. w. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1897.

19. Babes et Levaditi, Sur la forme actinomycotique du bacille de la tuberculose. *Archives de Méd expérim.* 1898.

20. Ledoux-Lebard, Developpement et structure des colonies du le bacil tuberculeux. *Ebenda.* 1898.



Erklärung der Abbildungen.

(Taf. I—III.)

(Die Mikrophotographieen sind mit dem Leitz'schen aufrechtstehenden Apparat angefertigt.)

Tafel I.

Fig. 1. Präparat aus den Körnchen. Färbung nach Gram. Vergrösserung 800.

Fig. 2. Zweitäg. Agarcultur aus demselben Falle. Färb. nach Gram. Vergr. 800.

Fig. 3. Zweitägige Bouilloncultur, desgl.

Fig. 4. Schnitt aus den Granulationsmassen, Fixation mit Quecksilber, Färbung mit Biondi-Heidenhainlösung. Vergrösserung 50.

Fig. 5. Peripherie eines der in vier Photogr. abgebildeten Körnchen, Färbung mit Biondi-Heidenhainlösung. Vergrösserung 600.

Fig. 6. Roggenähre, die mit Vegetationen von Strahlenpilzen bedeckt ist; Photographie aus unserer Dissertation.

Fig. 7. Schnitt aus einer Lymphdrüse von einem aktinomykotischen Rinde: Riesenzelle mit aktinomykot. Drüse; Färbung nach Ziehl mit Methylenblau.

Fig. 8. Desgl. Vergrösserung 75.

Fig. 9. Eine der auf 8 Photographieen abgebildeten Drüsen. Vergr. 275.

Tafel II.

Figg. 1 u. 2. Präparate aus den Körnchen. Färbung nach Gram. Vergr. 1250.

Fig. 3. Schnitt aus dem Sputum, Fixation mit Quecksilber, Färbung mit Biondi-Heidenhainlösung. Vergr. 300.

Fig. 4. Desgl. Vergr. 50.

Fig. 5. Desgl. Färbung nach Gram und mit Pikrocarmin. Vergr. 50.

Fig. 6. Peripherie des Körnchens, das in 5 Photogr. abgebildet. Vergr. 500.

Fig. 7. Desgl. Vergr. 1250.

Fig. 8. Schnitt aus dem Sputum, Färbung nach Gram und mit Pikrocarmin. Vergr. 1250.

Figg. 9 u. 10. Zweitäg. Glycerinagarcultur, Färbung nach Gram. Vergr. 1250

Fig. 11. Zweitägige Bouilloncultur, Färbung nach Gram. Vergr. 1250.

Fig. 12. Zweitägige Glycerinagarcultur. Färbung nach Gram. Vergr. 2000.

Fig. 13. Dreitägige Bouilloncultur.

Fig. 14. Achttägige Bouilloncultur mit decantirtem Bouillon.

Fig. 15. Agarcultur, zweitägige Colonieen. Vergr. 30.



Tafel III.

Fig. 1. Schnitt aus der linken Lunge, Färbung mit schwacher, wässeriger Fuchsinlösung. Vergr. 20.

Fig. 2. Schnitt aus der rechten Lunge, Färbung desgl. Vergr. 5.

Fig. 3. Schnitt aus der linken Lunge, Körnchen, Färbung mit Löffler'scher Methylenblaulösung und mit Eosin. Vergr. 500.

Fig. 4. Viertägige Cultur von Bac. pseudoactinomycosis Krassnobajew's auf Zuckeragar mit Hydrocoelenflüssigkeit direct von Kranken überimpft.

Figg. 5 u. 6. Zweitäg. Bouilloncultur dieses Bacillus, Färbung mit schwacher wässeriger Fuchsinlösung. Vergr. 500.

Fig. 7. Desgl. Vergr. 800.



[Aus dem Institute für klinische Chirurgie und Pathologie der Universität zu Genua (Prof. D. Morisani).]

Ueber die baktericide Wirkung des Alkohols.

Von

Dr. **Rafael Minervini,**
Assistenzarzt.

Gelegentlich einiger Versuche über die Sterilisation der Nahrungsmittel habe ich mich mit der baktericiden Wirkung antiseptischer Substanzen in alkoholischen Lösungen befassen müssen, und hatte schon verschiedene diesbezügliche Beobachtungen gesammelt, als Epstein's Arbeit[1]: Zur Frage der Alkoholdesinfection erschien, deren Endschlüsse sind:

1. Dem absoluten Alkohol kommt keine desinficirende Kraft zu, wohl aber seinen Verdünnungen.

2. Circa 50procent. Alkohol desinficirt von den rein spirituösen Flüssigkeiten am besten; in bedeutend höherer oder geringerer Concentration nimmt die Desinfectionskraft ab.

3. Antiseptica, die in wässerigen Lösungen mehr oder minder wirksam sind, verlieren ihre desinficirende Eigenschaft, wenn sie in hoch percentuirtem Alkohol gelöst werden (Koch); dagegen wirken Sublimat, Carbol, Lysol und Thymol in 50procent. spirituöser Lösung besser desinficirend als (in gleicher Concentration) in Wasser gelöst.

Nachdem einige dieser Resultate nicht ganz mit jenen zu stimmen schienen, welche sich mir nach meinen persönlichen Beobachtungen ergaben, beschloss ich, die Frage neuerdings zu untersuchen und die Wahr-

[1] *Diese Zeitschrift.* 1897. Bd. XXIV.



nehmungen über die desinficirende Kraft des Alkohols zu wiederholen, zu erweitern und zu vervollständigen.

Ich wiederhole hier nicht die Geschichte dieser Frage, noch die verschiedenen Meinungen und Discussionen der Autoren. Diese Litteratur findet sich in Epstein's Arbeit ausreichend gesammelt, nur will ich erwähnen, dass nach der ersten Koch'schen Behauptung der Unfähigkeit des Alkohols zur Tödtung der Milzbrandsporen, und der Verminderung des Werthes der in ihnen gelösten Antiseptica, zahlreiche Controversen folgten und viele Beobachtungen und Auffassungen widersprechender Natur. Denn vom praktischen Standpunkte aus ist diese Frage von grösster Wichtigkeit, weil, ausser der Behandlung der Verletzungen und Entzündungen (alkoholische Behandlung von Larrey und See), sie auch das Problem der Desinfection der Hände (Fürbringer) berührt, ferner auch die geburtshülfliche Desinfection (Ahlfeld, Kahle), jene der Catgutsterilisation, der Nahrungsmittelconservirung u. s. w. u. s. w.

Einige Autoren, wie Fürbringer, Reinicke, Ahlfeld, Kahle, Schäffer, B. Schmit, sind Anhänger der baktericiden Wirkung des Alkohols, andere, wie Kronig, Leedham Green, Landesberg, sind der entgegengesetzten Ansicht. Diese Autoren haben aber die Frage nicht allein vom praktischen Standpunkte aus studirt und begründen ihre Ansicht nicht ausschliesslich auf die Ergebnisse der Praxis (welch' letztere allzu complex sind und aus einer grossen Zahl von Factoren hervorgehen), vielmehr stützen sie sich auch auf experimentelle und bakteriologische Versuche, welche in namhaften wissenschaftlichen Laboratorien angestellt wurden. Ein derartiger Widerspruch erklärt sich nur aus der grossen Schwierigkeit solcher Versuche und der zahlreichen störenden Einflüsse dabei, welche zur Ursache von Fehlern werden und um deretwillen die Resultate der sogen. Sterilitätsprüfungen sehr unsicher sind.

Die Widerstandskraft der Keime gegen die Desinfection ist an sich ausserordentlich veränderlich, wie experimentell Esmarch bei dem Milzbrand nachgewiesen hat, ferner muss man die Anzahl der Keime, ihre ungleiche Häufung, ihre specielle Aggregation, die grössere oder geringere Penetrations- und Actionsfähigkeit der Antiseptica in Betracht ziehen, dann die Umgebungsbedingungen, jene des Nährbodens, die Eindringungsmöglichkeit der antiseptischen Substanzen, welche gegen die Keime gebraucht werden und alle anderen Gründe, die Gruber in Betracht zog, und vielleicht noch andere Bedingungen, die wir zur Zeit nicht kennen.

Ich hatte öfters Gelegenheit, mich von dieser so sehr verschiedenen Widerstandskraft gegen die Sterilisation nicht nur bei Keimen mit festen Formen (Sporen) zu überzeugen, sondern auch bei vegetirenden Arten und nicht sporogenen Keimen. So habe ich manchmal bei Culturen von Staphylo-



coccus pyogenes aureus oder Bacillus pyocyaneus desselben Alters, desselben Ursprunges, auf gleichem Nährboden gezüchtet, bei gleicher Temperatur und gleichem Lichte u. s. w. ganz ungleiche Widerstandskraft gesehen und ebenso auch bei von derselben Keimcultur inficirten Fäden.

Ich glaube somit, dass zur Vermeidung von Fehlern es keinen wichtigeren Weg giebt, als jenen, die Prüfungen in grösster Anzahl zu wiederholen, ehe man verlässliche Resultate zu haben vermeint.

Die Methode, die ich bei diesen Untersuchungen gebrauchte, war hauptsächlich jene der inficirten Seidenfäden, also die alte Koch'sche Methode, welche, mit der nöthigen Vorsicht angewandt, und die Epstein'sche Anweisung, die Fäden bis auf's Aeusserste zu zerfasern und sie gewaltig zu schütteln, ehe man sie in die Bouillon bringt, gute Resultate giebt.

Es scheint mir, dass diese Methode viel bequemer ist als jene, Deckgläschen zu inficiren. Auch dem inficirten Filtrirpapier Gruber's ist sie vorzuziehen; denn wenn schon der Seidenfaden ein Bündel sehr feiner Fasern ist, welcher die Anhäufung des Bakterienmateriales in seinem Innern und die Krustenbildung erlaubt, so dass das freie und wirksame Eindringen der antiseptischen Stoffe behindert wird, so muss mit grösserer Wahrscheinlichkeit das Filtrirpapier diese Inconvenienz zeigen, da es an sich nicht ein Bündel von Elementarfäden bildet, sondern eine unentwirrbare filzähnliche Masse, in deren Schoosse sich die Mikroorganismen günstiger einnisten und einschliessen können.

Ich habe mich also roher Seidenfäden bedient, nicht länger als 2 ^{cm}, mit Pincetten und Nadeln bis in ihre Elementarfasern zerlegt, sie dann mit Aether entfettet und mit Wasserdämpfen sterilisirt. Diese also präparirten Fäden habe ich in die 1 bis 3 Tage alte Bouilloncultur getaucht und im Brütofen bei 37^{0} einen Tag lang belassen, noch andere 2 bis 4 Tage; nachher habe ich sie aus der Bouillon gezogen, in sterilisirte Petri-Schalen gebracht, und im Brütofen bei 37^{0} bis zu ihrer Trocknung belassen.

Es ist vorzuziehen, die Fäden aus den Culturen zu ziehen und nicht die ganze Bouillon in die Petri-Schalen zu giessen, eben um dichte Bakterienkrustenbildung und Albuminreste um die Fäden zu vermeiden, welch' letztere man eben erzielt, wenn man grosse Quantitäten Bouillon langsam verdunsten lässt.

Diese Schalen wurden dann im Trockenen und vor Licht geschützt aufbewahrt und dienten nicht für lange Zeit, um nicht der Vitalitäts-Widerstandsverminderung anheim zu fallen.

Ich habe aber auch ein anderes System gebraucht, um mich noch mehr vor der Bakterienkrustenbildung zu sichern: ich habe an dünne Metalldräthe gedacht, deren Oberfläche weder Unebenheiten, noch Risse hat, wohl aber cylindrisch glatt und absolut unporös ist. Ich bediente



mich also dünner Stahlnadeln (ohne Fadenöse). Die bereits in der Hitze sterilisirten Nadeln werden in die Culturen getaucht und genau so behandelt, wie die Seidenfäden. Ich habe dieses System äusserst praktisch gefunden wegen der Leichtigkeit, mit der man die Nadeln handhaben kann, und wegen ihrer schnelleren Trocknung, und indem ich analoge Prüfungen in grösserer Zahl in Seidenfäden und Nadeln wiederholte, bemerkte ich eine grössere Richtigkeit und Uebereinstimmung der Ergebnisse mit dem Nadelsystem. Dies der Grund, warum ich dieses letztere den Studirenden empfehle.

Die Stahlnadeln haben jedoch einen Nachtheil, und zwar, dass sie, wenn die Verdunstung der Bouillon nicht schnell vor sich geht, oder wenn sie in nicht ganz trockenen Räumen aufbewahrt werden, leicht oxydiren, und das erschwert natürlich das Experiment, denn es ist möglich, dass die Eisenoxydationsproducte auf die Lebensbedingungen der Keime Einfluss äussern. Um dies zu vermeiden, könnte man statt der Stahldrähte solche aus Platin oder auch Glasfäden (dünne Glasstäbchen) gebrauchen. Ich habe also sowohl die Methode der zerfaserten Seidenfäden, als auch jene der Metalldrähte gebraucht, und aus der Darstellung der Prüfungsresultate wird man ersehen, dass, wenn ein kleiner Unterschied vorliegt, dieser zum Vortheil der letzteren erscheint.

Zur Fadeninficirung gebrauchte ich sowohl Mikroorganismen, welche der Sterilisation grossen Widerstand leisten, mit dauernden Formen, wie der Milzbrand- und Heubacillus, als auch Mikroorganismen von geringer Widerstandskraft und nicht sporogene, und unter diesen sorgte ich speciell für jene, welche zu den gewöhnlichsten Erregern der chirurgischen infectiösen Entzündungen zählen, z. B. der pyogene Staphylococcus, der Colibacillus, der Pyoceanus u. s. w.

Ich habe vier verschiedene Untersuchungsserien gemacht, die erste, um die baktericide Wirkung des Aethylalkohols bei normaler Temperatur zu prüfen, die zweite beim Siedepunkt, die dritte unter Druck bei noch höherer Temperatur, die vierte, um die Wirkung antiseptischer Substanzen in alkoholischen Lösungen zu untersuchen.

I. Alkohol bei normaler Temperatur.

Ich habe hierbei die baktericide Wirkung des Aethylalkohols in verschiedenen Verdünnungen untersucht bei der gewöhnlichen Laboratoriumtemperatur, also 15 bis 20° C. Im Anfange gebrauchte ich den chemisch absoluten Aethylalkohol, nachher jedoch, wegen der Schwierigkeit, solchen zu verschaffen und zu erhalten, gebrauchte ich immer den officinellen absoluten Alkohol, der thatsächlich selten 99° des Gay-Lussac'schen Alkoholo-



meters hat, und wenn der Procentgehalt etwas von 99° entfernt war, brachte ich ihn unter Hinzufügung von Wasser oder 100gradigen Alkohols genau auf 99°. Ausser diesem gebrauchte ich 80-, 70-, 50- und 25procentigen Alkohol. Zu diesen Verdünnungen nahm ich immer officinellen Alkohol, erst kürzlich präparirtes und sterilisirtes destillirtes Wasser.

Die inficirten Fäden wurden in vorher sterilisirten Porcellanschalen in diese fünf verschiedenen Alkoholverdünnungen gebracht und verschlossen; jede enthielt ca. 10^{ccm} Alkohol. Dann, nach einer bestimmten Zeit, entnahm ich mit sterilisirten Pincetten die Fäden aus dem Alkohol und gab sie in die Probirgläschen mit sterilisirter Nährbouillon, welche gleich in den Brütofen bei 37° gestellt wurden. Diese Gläschen wurden 8 Tage lang täglich beobachtet. Ich pflegte nicht die Fäden nach ihrem Aufenthalte im Alkohole mit Wasser zu waschen, um die technische Operation nicht weiter zu compliciren und um in die Experimente nicht andere Ursachen möglicher Irrungen einzuführen. Da es sich um so dünne Seidenfäden und Drahtnadeln handelte, glaubte ich, dass die möglicher Weise ihnen anhaftende Alkoholquantität so gering wäre, dass sie — zumal in der Bouillon (ca. 10^{ccm}) nachher verdünnt — vernachlässigt werden könne, zumal bei der Uebertragung des Fadens oder der Nadel vom Alkohol in die Bouillon ein Theil der minimalen Alkoholquantität ohne Zweifel verdunstet.

Ich stelle die gemachten Versuche tabellarisch zusammen und bediene mich dabei, wie das allgemein gebräuchlich ist, der Zeichen + und —, je nach dem positiven oder negativen Resultate. Das Zeichen (?) bezeichnet jene Prüfungen, deren Resultat mir nicht ganz sicher erschien, oder in welchen Ursachen zufälliger Natur eingegriffen haben. Das Zeichen (!) soll die Aufmerksamkeit auf jene Prüfungen lenken, deren Ergebniss entweder unerwartet oder sehr verschieden von den anderen ist. Endlich, da ich für jede Serie viele Prüfungen wiederholt und Material benutzt habe, welches mit Culturen verschiedenen Alters und verschiedener Provenienz inficirt war, so bezeichne ich mit den fortschreitenden Buchstaben a, b, c u. s. w. den Ursprung der Inficirung der verschiedenen Culturen.

Ich bemerke auf jeder Tabelle einzeln die Resultate, welche ich mit den Seidenfäden und jene, welche ich mit Drahtnadeln erzielt habe.

Micrococcus tetragenus (Tabelle I).

a) Bouilloncultur (2 Tage alt) bei 37° im Brütofen entwickelt (von einer lebensfrischen Agarcultur der Institutscollection). Inficirung der Seidenfäden am 12. October 1897.

b) Bouilloncultur (3 Tage alt) im 24gradigen Brütofen (desselben Ursprungs). Inficirung der Seidenfäden und Drahtnadeln am 8. Mai 1898.



Tabelle I.
Micrococcus tetragenus.

Zeit		25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
Seidenfäden.						
5 Minuten	a)	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
	b)	+ +	+ —	+ —	+ +	+ +
10 „	a)	+ +	+ —	+ —	+ +	+ +
	b)	+ +	+ —	— —	+ +	+ +
30 „	a)	+ +	+ —	+ —	+ +	+ +
	b)	+ +	— —	— —	+ +	+ +
1 Stunde	a)	+ +	—	—	+ +	+ +
	b)	+ —	—	—	+ —	+ +
6 Stunden	a)	— —	—	—	+ —	+ —
	b)	— —	—	—	— —	+ —
12 „	a)	—	—	—	—	+ —
	b)	—	—	—	—	— —
24 „	a)	—	—	—	—	—
	b)	—	—	—	—	—
Stahldraht.						
5 Minuten	b)	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
10 „	b)	+ +	— —	— —	+ +	+ +
30 „	b)	+ +	—	—	+ +	+ +
1 Stunde	b)	— —	—	—	+ +	+ +
6 Stunden	b)	—	—	—	— —	+ +
12 „	b)	—	—	—	—	— —
24 „	b)	—	—	—	—	—

Es wird somit der Tetragenus auf den Seidenfäden im 50- oder 70 procent. Alkohol getödtet innerhalb 30 Minuten und 1 Stunde, in jenem zu 25 Procent innerhalb 1 bis 6 Stunden, in jenem zu 80 Procent innerhalb 6 bis 12 Stunden, und jenem zu 99 Procent zwischen 12 und 24 Stunden. Die Stahldrahtnadelprüfungen haben bewiesen, dass zur Abtödtung des Keimes geringere Zeiträume gehören: im Alkohol von 50 und 70 Procent 10 Minuten, zu 25 Procent 1 Stunde, zu 80 Procent 6 Stunden und bei 99° 12 Stunden.

Bacillus pyocyaneus (Tabelle II).

a) Bouilloncultur (2 Tage alt) im Brütofen bei 37° entwickelt (von einer Agarcultur des Instituts). Inficirung der Seidenfäden am 12. October 1897.

b) Bouilloncultur von 4 Tagen, im Brütofen bei 37° entwickelt (von einer Einimpfung der Cultur a). Inficirung der Seiden- und Metallfäden am 10. März 1898.

Tabelle II.

Bacillus pyocyaneus.

Zeit		25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
Seidenfäden.						
5 Minuten	a)	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
	b)	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
10 „	a)	+ +	+ —	+ —	+ — !	+ +
	b)	+ +	— —	— —	+ +	+ +
30 „	a)	+ —	— —	— —	+ +	+ +
	b)	+ —		—	+ +	+ +
1 Stunde	a)	+ —	—	—	+ +	+ +
	b)	— —	—	—	+ —	+ +
6 Stunden	a)	— —	—	—	+ +	+ +
	b)	— —	—	—	+ —	+ —
12 „	a)	—	—	—	+ —	+ —
	b)	—	—	—	— —	+ —
24 „	a)	—	—	—	— —	+ ? —
	b)	—	—	—	— —	— —
Stahldraht.						
5 Minuten	b)	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
10 „	b)	+ +	— —	— —	+ +	+ +
30 „	b)	+ +	—	—	+ +	+ +
1 Stunde	b)	— —	—	—	+ +	+ +
6 Stunden	b)	—	—	—	+ +	+ +
12 „	b)	—	—	—	— —	+ +
24 „	b)	—	—	—	—	— —

Dieser Keim stirbt also auf den Seidenfäden in 50- und 70 procent. Alkohol innerhalb 10 oder 30 Minuten, in jenem zu 25 Procent in 1 bis 6 Stunden, in jenem zu 80 und 99 Procent innerhalb 12 bis 24 Stunden. Auf den Stahldrahtnadeln erfolgte die Keimtödtung etwas früher, d. h. in 50- oder 70 procent. Alkohol in 10 Minuten, in jenem zu 25 Procent in 1 Stunde.

Micrococcus prodigiosus (Tabelle III).

a) Bouilloncultur (2 Tage alt), im Brütofen bei 37° (aus einer Agarcultur des Instituts). Inficirung der Seidenfäden am 6. November 1897.

b) Bouilloncultur (4 Tage alt), im Brütofen bei 24° (aus der vorhergegangenen Cultur a). Inficirung der Seidenfäden und Stahldrähte am 21. März 1898.

Tabelle III.

Micrococcus prodigiosus.

Zeit		25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
Seidenfäden.						
5 Minuten	a)	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
	b)	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
10 „	a)	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
	b)	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
30 „	a)	+ +	+ —	+ —	+ +	+ +
	b)	+ +	+ —	— —	+ +	+ — !
1 Stunde	a)	+ +	— —	—	+ +	+ +
	b)	+ —	— —	—	+ +	+ +
6 Stunden	a)	— —	—	—	+ +	+ +
	b)	— —	—	—	+ —	+ —
12 „	a)	—	—	—	+ —	+ +
	b)	—	—	—	—	+ —
24 „	a)	—	—	—	—	+ —
	b)	—	—	—	—	— —
Stahldraht.						
5 Minuten	b)	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
10 „	b)	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
30 „	b)	+ +	— —	— —	+ +	+ +
1 Stunde	b)	— —	—	—	+ +	+ +
6 Stunden	b)	—	—	—	— —	+ +
12 „	b)	—	—	—	—	+ +
24 „	b)	—	—	—	—	— —

Dieser Keim blieb auf den Seidenfäden abgetödtet im Alkohol zu 50 oder 70 Procent innerhalb 30 Minuten und 1 Stunde, in jenem zu 25 Procent zwischen 1 bis 6 Stunden, in jenem zu 80 Procent zwischen 12 bis 24 Stunden, und in jenem zu 99 Procent vielleicht nicht einmal in 24 Stunden. Auf den Stahldrahtnadeln etwas früher, aber mit derselben relativen Zeitvariation.

Staphylococcus pyogenes aureus (Tabelle IV).

a) Bouilloncultur (3 Tage alt), im Brütofen bei 37° (aus der Instituts-Agarcultur). Inficirung der Seidenfäden im October 1896.

b) Bouilloncultur (2 Tage alt), im Brütofen bei 37° (isolirter Keim aus frischem Eiter). Seidenfädeninficirung am 10. November 1897.

c) Bouilloncultur (4 Tage alt), im Brütofen bei 37° (aus der Cultur b). Inficirung der Seidenfäden und Stahldrahtnadeln am 29. März 1898.



Tabelle IV.

Staphylococcus pyogenes aureus.

Zeit		25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
Seidenfäden						
5 Minuten	a)	+ +	+ +	+ +	+ +	+
	b)	+ +	+ +	+ +	+	+
	c)	+	+	+	+	+
10 „	a)	+ +	+ +	+ +	+ +	+
	b)	+ +	+ +	+ +	+ +	+
	c)	+	+	+	+	+
30 „	a)	+ +	— —	— —	+ +	+
	b)	+ +	+ —	+ —	+ +	+
	c)	+	—	—	+	+
1 Stunde	a)	+ +	— —	+! —	+ +	+
	b)	+ +	+ + !	— —	+ +	+
	c)	+	—	—	+	— !
6 Stunden	a)	+ —	— —	— —	+ +	+
	b)	+ +	— —	— —	+ +	+
	c)	+	—	—	+	+
12 „	a)	+ —	— —	—	+	+
	b)	+ +	— —	—	+ +	+
	c)	—	—	—	+	+
24 „	a)	— —	—	—	+ —	— !
	b)	+ —	—	—	+ +	+
	c)	—	—	—	—	+
3 Tage	b)	— —	—	—	+	+
	c)	—	—	—	+	+
Stahldraht						
5 Minuten	c)	+ +	+ +	+ +	+ +	+
10 „	c)	+ +	+ +	+ —	+ +	+
30 „	c)	+ +	— —	— —	+ +	+
1 Stunde	c)	+ +	— —	— —	+ +	+
6 Stunden	c)	+ +	—	—	+ +	+
12 „	c)	— —	—	—	+ +	+
24 „	c)	— —	—	—	— +	+
3 Tage	c)	—	—	—	—	+

Wie man sieht, ist dieser Keim etwas widerstandskräftiger als die vorhergegangenen und besonders die inficirten Fäden aus der Cultur b. Auf den Seidenfäden in 50- und 70procent. Alkohol bleibt der Keim gewöhnlich zwischen 30 Minuten und 1 Stunde abgetödtet, manchmal sogar lebt er noch nach 1 Stunde, in jenem Alkohol zu 25 Procent

stirbt er nach 24 Stunden, in jenem zu 80 und 99 Procent ist der Keim öfters noch nach 3 Tagen lebend. Auf den Stahldrahtnadeln bleibt der Keim getödtet: im Alkohol zu 50 und 70 Procent nach 10 und 30 Minuten, zu 25 Procent nach 6 bis 12 Stunden, in jenem zu 80 und 99 Procent widersteht er noch nach 1 bis 3 Tagen.

Bacterium coli commune (Tabelle V).

a) Bouilloncultur (3 Tage alt), im Brütofen bei 24° (aus Agarcultur frisch aus menschlichen Dejectionen isolirt). Inficirung der Seidenfäden und Stahldrähte am 4. Mai 1898.

Tabelle V.

Bacterium Coli.

Zeit		25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
Seidenfäden						
5 Minuten	a)	+ +	+ +	+ +	+ +	+
10 „	a)	+ +	+ +	+ +	+ —!	+
30 „	a)	+ +	+ —	+ +	+ +	+
1 Stunde	a)	+ +	+ +	+ + ?	+ +	+
6 Stunden	a)	+ —	— —	— —	+	+
12 „	a)	+ +	— —	— —	+ —	+
24 „	a)	+ —	—	—	+	—
Stahldraht						
5 Minuten	a)	+	+	+	+	+
10 „	a)	+	+	+	+	+
30 „	a)	+	+	+	+	+
1 Stunde	a)	+	—	—	+	+
6 Stunden	a)	+	—	—	+	+
12 „	a)	+	—	—	+	+
24 „	a)	—	—	—	— ?	—

Dieser Keim zeigt gleichfalls eine ziemliche Widerstandskraft gegen Alkohol. In jenem von 50 und 70 Procent stirbt er nach 1 Stunde und in jenem zu 25, 80 und 99 Procent nach 24 Stunden und oftmals auch dann noch nicht.

Bacillus subtilis (Tabelle VI).

a) Bouilloncultur (3 Tage alt), im Brütofen bei 37° (aus alter Agarcultur des Instituts). Constatirte Sporification. Inficirung der Seidenfäden am 18. März 1897.



b) Bouilloncultur (2 Tage alt), im Brütofen bei 37° (aus frischer Gelatinecultur, welche mir freundlichst vom hygienischen Institute der hiesigen Universität geliefert wurde). Ausreichende Sporenbildung. Inficirung der Seidenfäden und Stahldrähte am 8. März 1898.

Tabelle VI.

Bacillus subtilis (sporogene).

Zeit		25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
Seidenfäden.						
30 Minuten	a)	+ +	+ +	+ +	+	+
1 Stunde	a)	+ +	+ +	+ +	+	+
	b)	+	+	+	+	+
6 Stunden	a)	+	+ +	+ +	+	+
	b)	+	+	+	+	+
12 „	a)	+	+	+	+	+
	b)	+	+	+	+	+
24 „	a)	+	+	+	+	+
	b)	+	+	+	+	+
3 Tage	a)	+	+	+	+	+
	b)	+	+	+	+	+
8 Tage	a)	+	+	+	+	+
	b)	+	+	+	+	+
Stahldraht.						
1 Stunde	b)	+	+	+	+	+
6 Stunden	b)	+	+	+	+	+
12 „	b)	+	+	+	+	+
24 „	b)	+	+	+	+	+
3 Tage	b)	+	+	+	+	+
8 „	b)	+	+	+	+	+

Dieser Keim hat in allen fünf Alkoholverdünnungen widerstanden und ausreichendes und schnelles Wachsthum in allen Prüfungen ergeben, eine Widerstandskraft, die ohne Zweifel den Sporen zuzuschreiben ist. Ich habe die Versuche nicht über den 8. Tag fortgesetzt.

Bacillus anthracis (Tabelle VII).

a) Bouilloncultur (3 Tage alt), im Brütofen bei 37° (aus der Instituts-Agarcultur). Constatirte Sporification. Inficirung der Seidenfäden im November 1896.

b) Bouilloncultur (4 Tage alt), im Brütofen bei 37° (Ursprung wie oben). Sporification. Seidenfädeninficirung am 3. April 1897.

c) Bouilloncultur (2 Tage alt), im Brütofen bei 37° (gleichen Urprunges). Sporification. Seidenfädeninficirung am 6. December 1897.



d) Bouilloncultur (3 Tage alt), im Brütofen bei 37° (aus einer frisch isolirten Gelatinecultur aus dem Blute eines an Milzbrand verendeten Thieres, und mir freundlichst vom hygienischen Institute der hiesigen Universität überlassen). Intensive Sporification. Inficirung der Seidenfäden und Stahldrähte am 13. März 1898.

Tabelle VII.

Bacillus anthracis (sporogen).

Zeit		25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
Seidenfäden.						
30 Minuten	a)	+	+ +	+ +	+	+
	b)	+	+	+	+	+
	c)	+	+	+	+	+
1 Stunde	a)	+	+ +	+ +	+	+
	b)	+	+	+	+	+
	c)	+	+	+	+	+
6 Stunden	a)	+ +	+ +	+ +	+	+
	b)	+	+	+	+	+
	c)	+	+	+	+	+
	d)	+	+	+	+	+
12 „	a)	+ +	+ +	+ +	+	+
	b)	+	+	+	+	+
	c)	+	+	+	+	+
	d)	+	+	+	+	+
24 „	a)	+	+ +	+ +	+	+
	b)	+	+	+	+	+
	c)	+	+	+	+	+
	d)	+	+	+	+	+
3 Tage	a)	+	+ +	+ +	+	+
	b)	+	+	+	+	+
	c)	+	+	+	+	+
	d)	+	+	+	+	+
8 „	a)	+	+ +	+ +	+ +	+
	b)	+	+	+	+	+
	d)	+	+	+	+	+
15 „	a)	+	+	+	+	+
	b)	+	+	+	+	+
25 „	a)	+	+	+	+	+
50 „	a)	+	+	+	+	+
Stahldraht.						
6 Stunden	d)	+	+	+	+	+
12 „	d)	+	+	+	+	+
24 „	d)	+	+	+	+	+
3 Tage	d)	+	+	+	+	+
8 „	d)	+	+	+	+	+

Auch dieser Keim hat sich äusserst widerstandskräftig gezeigt und, wie schon **Koch** bewiesen, ist er vom Alkohol unangreifbar.

Ich habe die Versuche 25 bis 50 Tage lang fortgesetzt, und die Fäden, von Milzbrandsporen inficirt, ergaben bei allen Prüfungen ausnahmslos ein schnelles und kräftiges Wachsthum.

Aus dieser ersten Serie der Untersuchungen kann man entnehmen, dass der Aethylalkohol bei normaler Temperatur in irgend welcher Verdünnung keinerlei baktericide Wirkung auf Mikroorganismen mit Dauerformen hat, auch dann nicht, wenn seine Action auf viele Tage ausgedehnt wird, dass dagegen auf Keime ohne Dauerformen der Alkohol eine sehr verschiedene Wirkung ausübt, und zwar je nach dem Grade der Verdünnung. Das Maximum hierin beobachtet man in 50- und 70procent. Alkohol, oder auch in den mittleren Verdünnungen. Zwischen 50- und 70procent. Alkohol habe ich bei allen Versuchen hinsichtlich der baktericiden Wirkung keinerlei Differenz ermitteln können.

Weniger energisch in seiner Wirkung ist der 25procent. Alkohol, noch geringer der 80procent., am allerschwächsten aber der 99procentige (A. absolutus).

Von nicht sporogenen Keimen, mit welchen ich Prüfungen angestellt, habe ich gefunden, dass die am wenigsten widerstandskräftigen der Tetragenus und der Pyocyaneus sind, auf diese folgen in fortschreitender Ordnung der Prodigiosus, der Staphylococcus und der Bacillus coli.

Aus den obigen Tabellen resultirt, dass die Stahldrahtmethode ungleich bessere und präcisere Ergebnisse liefert, als jene der Seidenfäden: und schliesslich ersieht man, dass die Widerstandskraft gegen die alkoholische Sterilisation, so wie sie aus meinen Prüfungen resultirt, immer etwas grösser ist, als jene von **Epstein** gefundene. Dieser hat z. B. gefunden, dass im 50procent. Alkohol der Pyocyaneus nach 5 Minuten und der Staphylococcus nach 10 Minuten abstirbt, während, wie man aus den bezüglichen Tabellen ersieht, ich den ersten erst nach 30 Minuten (auf dem Stahldrahte nach 10 Minuten) und den zweiten erst nach 1 Stunde (auf dem Stahldrahte nach 30 Min.) abgestorben fand. Diese fortdauernde Veränderung zwischen den Resultaten **Epstein's** und den meinen, wie wir auch fernerhin gelegentlich der Versuche mit antiseptischen Lösungen sehen werden, entstammt vielleicht auch, ausser dem Unterschiede in der technischen Gebahrung, aus der verschiedenen primären Lebenswiderstandskraft der gebrauchten Keime.

Ich wollte auch wiederholen und controliren, was zuerst **Ahlfeld** beobachtete, dass nämlich die baktericide Wirkung des Alkohols bei sonstiger Gleichheit der Umstände grösser ist bei feuchten Keimen, als bei trockenen.



Ich habe daher Versuche mit Seidenfäden eingeleitet, welche inficirt waren mit Heubacillen aus der Cultur b und mit Staphylococcus aus der Cultur c, und ehe ich sie in die Alkohol enthaltenden Schalen tauchte, hielt ich sie 10 bis 15 Minuten lang in Behältern mit destillirtem und sterilisirtem Wasser (29. März 1898). (Vgl. Tabelle VIII.)

Tabelle VIII.

Feuchte Seidenfäden.

Zeit		25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
Bacillus subtilis.						
1 Stunde	b)	+	+	+	+	+
6 Stunden	b)	+	+	+	+	+
12 „	b)	+	+	+	+	+
24 „	b)	+	+	— !	+	+
3 Tage	b)	+	+	+	+	+
8 „	b)	+	+	+	+	+
Staphylococcus p. a.						
5 Minuten	c)	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
10 „	c)	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
30 „	c)	+ +	— —	— —	+ —	+ —
1 Stunde	c)	+ +	— —	— —	+ —	+ —
6 Stunden	c)	+	—	—	—	+ —
12 „	c)	— —	—	—	—	— —
24 „	c)	—	—	—	—	—

Wie man ersieht, hat der Heubacillus in allen Versuchen ein positives Resultat ergeben, genau so wie im getrockneten Zustande (vgl. Tabelle VI). Dagegen hat der Staphylococcus im feuchten Zustande (vgl. Tabelle VIII mit Tabelle IV) im Alkohol zu 25, 50 und 70 Procent genau dieselbe Widerstandskraft gezeigt wie im trockenen Zustande; aber im 80- wie 99 procent. Alkohol erwies er eine viel geringere Widerstandskraft. Thatsächlich stirbt er innerhalb 6 bis 12 Stunden, widersteht keinesfalls 3 Tage und mehr, wie getrocknet.

Diese verschiedene Widerstandskraft gegen alkoholische Sterilisation der getrockneten und feuchten Keime, nur bei nicht sporogenem Material, welche ausschliesslich in hochgradigem Alkohol und nicht in geringgradigem und mittlerem erweisbar ist (welche doch die wirksamsten sind), giebt der Epstein'schen Ansicht Recht, dass diese verschiedene Widerstandskraft nicht einer Schwächung der feuchten Keime zuzuschreiben ist, sondern der erhöhten baktericiden Wirkung des mit Wasser vermischten Alkohols.

Als Nachtrag zu diesen Untersuchungen und um die Wirkung des Alkohols nach sehr langer Action zu prüfen, habe ich den Infections- oder Sterilitätszustand von alten anatomisch-pathologischen Präparaten untersucht, und aus dem Institutsmuseum Präparate gewählt, welche aus Affectionen eminent infectiöser Natur herrührten und in Alkohol in gut verschlossenen Gläsern aufbewahrt wurden. Mit aller nöthigen Vorsicht und mit sterilisirten Instrumenten nahm ich kleine Läppchen, wusch sie längere Zeit in sterilisirt-destillirtem Wasser und gab sie in sterilisirter Nährbouillon in den Brütofen bei 37°. Ich habe fortwährend negative Resultate erzielt.

Hier folgen die Beobachtungen (28. April 1898):

1. Cystitis. Autopsie. Protocoll-Nr. 8, 12. November 1887. Der Alkohol ist durchsichtig. Dichte = 50°.

Für den Versuch waren einige Läppchen der Harnblasenschleimhaut genommen

2. Septicämie. Autopsie. Protocoll-Nr. 250, 18. December 1885. Der Alkohol ist durchsichtig. Dichte = 89°.

Kleine Stückchen Milz, Leber und Nieren genommen.

3. Resectio intestinalis. Protocoll-Nr. 321, 17. Juni 1891. Der Alkohol ist durchsichtig. Dichte = 75°.

Ich entnehme kleine Läppchen der Darmschleimhaut.

4. Resectio intestinalis. Autopsie. Protocoll-Nr. 332, 21. Juni 1891. Der Alkohol ist trüb. Dichte = 58°.

Stückchen der Ränder einer evident gangränösen Verletzung mit Seidenfäden und -Knoten gewählt.

5. Pyelo-Nephritis. Nephrectomia. Protocoll-Nr. 295, 23. November 1890. Der Alkohol ist durchsichtig. Dichte = 81°.

Stückchen einer Abscesswand genommen.

6. Ulcus cruris. Amputation. Protocoll-Nr. 28, 3. April 1890. Der Alkohol ist durchsichtig. Dichte = 62°.

Stückchen vom Grunde eines gangränösen Geschwürs genommen.

Diese kleinen Gewebsstückchen, durch längere Zeit in sterilisirt-destillirtem Wasser gewaschen und in 18 sterilisirten Bouillonprobirgläsern in den Brütofen gebracht und 10 Tage lang beobachtet, liessen keinerlei Keimwachsthum constatiren.

In einigen Gläsern (drei) beobachtete ich eine leichte Trübung, aber sei es, weil die mikroskopische Untersuchung keinerlei bakterienähnliche Formen ergab, oder, weil die Impfungen dieser drei Gläser in andere resultatlos sich erwiesen, nahm ich an, dass jene Trübung nur chemischen Wirkungen zuzuschreiben sei.



II. Siedender Alkohol.

Um die baktericide Wirkung des Alkohols im Siedepunkte zu studiren, habe ich zwei Experimente ausgeführt.

Im ersten (12. November 1897) bediente ich mich eines gewöhnlichen Wasserbades, in welches ich viele Glasprobirröhrchen tauchte, welche theils 25 procent. Alkohol, theils solchen zu 50, 70, 80 und 99 Procent enthielten; die Gläser waren früher bei trockener Hitze sterilisirt und mit Baumwolle verstopft worden. In diese habe ich mit sechs verschiedenen Keimen inficirte Fäden gelegt, also Fäden mit Tetragenus aus der Cultur a, mit Pyocyaneus aus der Cultur a, mit Staphylococcus aus der Cultur b, mit Prodigiosus aus der Cultur a, mit Heubacillus aus der Cultur a, und mit Milzbrand aus der Cultur b.

Ich habe allmählich langsam die Temperatur des Bades erhöht: bei 78° C. begann in den bezüglichen Probirgläsern der 99 procent. Alkohol zu sieden, dann der 80 procent. und successive die anderen bei höheren Temperaturen, je nachdem sie 100° näher waren, während in den Gläsern mit höheren Concentrationen die Aufwallung immer heftiger wurde.

Nach 15 minutigem Sieden habe ich die Gläser dem Bade entnommen und gleich darauf mit sterilisirtem Platindraht die Seidenfäden herausgezogen und, ohne sie im Wasser zu waschen, in sterilisirter Bouillon in den Brütofen gebracht.

Beim zweiten Experimente (12. Mai 1898) habe ich genau dieselbe Technik befolgt, nur habe ich dünne Stahldrähte verwendet und auch mit dem Bacterium coli experimentirt. Ich habe diese Drähte mit Tetragenus aus der Cultur b, mit Pyocyaneus aus der Cultur b, mit Prodigiosus aus der Cultur b, mit Staphylococcus aus der Cultur c, mit Bacterium coli aus der Cultur a, mit Heubacillus aus der Cultur b und mit Milzbrand aus der Cultur d inficirt. (Vgl. Tabelle IX.)

Tabelle IX.

Siedender Alkohol (15 Minuten).

Zeit		25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
Seidenfäden.						
M. tetragenus	a)	—	—	—	—	+
B. pyocyaneus	a)	—	—	—	—	+
M. prodigiosus	a)	—	—	—	+	+
Staphylococcus p. a.	b)	—	—	—	+	+
B. subtilis	a)	—	+	+	+	+
B. anthracis	b)	—	+	+	+	+



Tabelle IX. (Fortsetzung.)

Zeit		25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
Stahldraht.						
M. tetragenus	b)	—	—	—	—	—
B. pyocyaneus	b)	—	—	—	—	+
M. prodigiosus	b)	—	—	—	—	+
Staphylococcus p. a.	c)	—	—	—	+	+
B. col.	a)	—	—	—	—	+
B. subtilis	b)	—	+	+	+	+
B. anthracis	d)	—	+	+	+	+

Aus diesen Ergebnissen kann man schliessen, „dass die geringgradigen (25 procent.) Alkoholverdünnungen siedend eine bactericide Wirkungskraft haben, die der des siedenden Wassers gleich kommt, denn in 15 Minuten sind sämmtliche Keime, auch die widerstandskräftigsten Sporen, zerstört worden".

„Dass die mittelgradigen Alkoholverdünnungen (50 und 70 Procent) zur Zerstörung der vegetirenden Formen und nicht sporogenen Keime dienen, sich aber wirkungslos gegen die sporogenen erweisen, und dass die hochgradigen Alkohollösungen (80 und 99 Procent) nicht im Stande sind, irgend eine Keimform, auch nicht die schwächste, zu tödten."

Diese so verschiedene Sterilisirungskraft hängt ohne Zweifel nicht von der verschiedenen Temperatur des Siedepunktes ab (weil hochgradige Alkohole, sogar wenn sie bis 100° überhitzt werden, nicht namhaft an ihrer geringen bactericiden Wirkung gewinnen), wohl aber von dem verschiedenen Procentgehalt an Wasser und erklärt sich direct durch die eminente bactericide Wirkung des siedenden Wassers.

III. Alkohol unter Druck erwärmt.

Um den bactericiden Werth des Alkohols unter Druck zu studiren, habe ich verschiedenen Schwierigkeiten begegnen müssen. Des üblichen Wasserdampf-Autoclaven konnte ich mich natürlich nicht bedienen, um in denselben offene Gläser mit Alkohol zu stellen, weil dieser letztere früher als das Wasser sieden und verdampfen würde, und wenn dies auch nicht ganz geschähe, die Wasserdämpfe doch unter Druck äusserst rasch vom Alkohol aufgenommen werden würden, so dass am Ende des Experimentes ein Alkohol von viel höherem Wassergehalt vorhanden wäre als am Anfang.



Im Anfange benützte ich an der Flamme zugeschmolzene Probirgläser, aber ich musste sie aufgeben, weil es nicht möglich ist, Temperatur und Druck ihres Inhaltes genau kennen zu lernen, und dann auch, weil sie nur Resultate äusserst schwankender Natur lieferten. Daher zog ich es vor, das Wasser gänzlich zu vermeiden und gebrauchte einfach mit Baumwolle verstopfte Probirgläser, indem ich auf den Grund des Autoclaven statt Wasser Alkohol der gleichen Gradverdünnung goss, wie sie jener in den Gläsern enthaltene hatte.

Mir diente vortrefflich zu diesem Zwecke ein Autoclav des Insitutes von sehr kleinen Proportionen. Ich musste natürlich den Versuch sehr oft wiederholen, und zwar je nach der Anzahl der verschiedenen Alkoholverdünnungen, aber im Ganzen erfolgten die Prüfungen ohne jeden Nachtheil Diese Versuche sind jedoch gewissermassen gefährlich, weil der Alkohol sehr rasch verdampft, und die grosse Spannung der Dämpfe erhöht manchmal ebenso schnell den Druck.

Ohne von den gescheiterten Versuchen zu sprechen, berichte ich nur von zwei Serieen dieser Untersuchungen: eine im December 1897 und die andere im April 1898 gemacht.

In der ersten gebrauchte ich Seidenfäden, bei der zweiten Stahldrahtnadeln. Die beobachtete Technik hierbei war die folgende: Nach der Prüfung und nach der Erkaltung und dem Herabsinken des Druckes entnahm ich die Fäden mit aller Vorsicht der Asepsis dem Alkohol und ohne sie im Wasser zu waschen, tauchte ich sie in Nährbouillon.

Es ist nicht möglich, bei allen Versuchen dieselben Zeit-, Temperatur- und Druckbedingungen zu erreichen, weil in derselben Zeiteinheit der innere Druck und ebenso die Innentemperatur des Autoclaven je nach dem Verdünnungsgrad des Alkohols variirt.

Die Grenzen, innerhalb welcher die ausgeführten Prüfungen schwankten, waren in der Zeit von 30 Minuten bis 1 Stunde.

Temperatur von 120 bis 150° C.

Druck von 2·5 bis 3·5 Atmosphären (oder besser 1 ^{kg} per Quadratcentimeter).

Hier folgen die Resultate der zwei Prüfungsserieen (vgl. Tabelle X und Tabelle XI).

Aus diesen Versuchen resultirt, dass der Aethylalkohol, zu Temperaturen über 100° erhitzt und der entsprechenden Druckerhöhung ausgesetzt, eine sterilisirende Kraft sehr verschiedener Natur je nach dem Grade seiner Concentration hat. Der geringgradige Alkohol, wie 25- oder 50 procent., hat eine sehr energische, dem Wasser ähnliche Action. Thatsächlich wurden in allen Prüfungen auch die widerstandskräftigsten Keime vollständig vernichtet.

Tabelle X.

Unter Druck erhitzter Alkohol.

Tetragenus Seidenfäden	Pyocyaneus Seidenfäden	Prodigiosus Seidenfäden	Staphyl. p. a. Seidenfäden	B. subtilis Seidenfäden	B. anthracis Seidenfäden
a.	a.	a.	b.	a.	b.
25 procent. Alkohol. Autoclave. 1 Stunde. 120°. 3 Atm.					
—	—	—	—	—	—
50 procent. Alkohol. Autoclave. 1 Stunde. 125°. 3·5 Atm.					
—	—	—	—	—	—
70 procent. Alkohol. Autoclave. 1 Stunde. 130°. 3·5 Atm.					
—	—	—	—	—?	—
80 procent. Alkohol. Autoclave. 40 Minuten. 125°. 3·5 Atm.					
—	—	—	—	+	+
99 procent. Alkohol. Autoclave. 30 Minuten. 130°. 3·5 Atm.					
—	+	+	+	+	+

Tabelle XI.

Tetragenus Stahldrahte	Pyocyaneus Stahldr.	Prodigiosus Stahldr.	Staph. p. a. Stahldr.	B. coli Stahldr.	B. subtilis Stahldr.	B. anthracis Stahldr.
b.	b.	b.	c.	a.	b.	d.
25 procent. Alkohol. Autoclave. 50 Minuten. 120°. 2·5 Atm.						
—	—	—	—	—	—	—
50 procent. Alkohol. Autoclave. 55 Minuten. 125°. 3 Atm.						
—	—	—	—	—	—	—
70 procent. Alkohol. Autoclave. 50 Minuten. 128°. 3·3 Atm.						
—	—	—	—	—	+	—
80 procent. Alkohol. Autoclave. 40 Minuten. 125°. 3·5 Atm.						
—	—	—	+	—	+	+
99 procent. Alkohol. Autoclave. 30 Minuten. 132°. 3·5 Atm.						
—	+	+	+	+	+	+

Der mittelgradige Alkohol (70procent.) vernichtet die nicht sporogenen Keime, aber nicht mit Sicherheit die widerstandskräftigeren Keime und die Sporen.

Der hochgradige Alkohol (80- bis 99procent.), auch bei höheren als den vorhergegangenen Temperaturen agirend, wie 130° und 3·5 Atmosphären (aber natürlich bei kürzerem Zeitraume, weil es nicht möglich ist, die Erhitzung dieser Alkohole sehr zu verlängern, ohne excessiv den Druck zu erhöhen), ist nie im Stande, die dauernden Keimformen zu vernichten und meistens kaum die minder widerstandskräftigen Formen.

Diese Unzulänglichkeit des concentrirten gegen den verdünnten Alkohol ist nicht der geringeren Dauer des Experimentes zuzuschreiben, wohl aber, ähnlich dem, was ich gelegentlich des siedenden Wassers bemerkte, hängt dies direct von der Thatsache ab, dass die baktericide Wirkung des Aethylalkohols auch überhitzt und comprimirt ganz enorm unter jener des Wassers (unter denselben Bedingungen) steht.

Diese Resultate scheinen ziemlich verschieden von jenen im Laboratorium Roux' vom Pasteur'schen Institut von Dr. Repin erzielten, welcher sich mit derselben Frage gelegentlich der Catgutsterilisation beschäftigte.

Dr. Repin findet thatsächlich, dass die Alkoholdämpfe, unter Druck und der Temperatur von 120° C. für 45 bis 60 Minuten wirkend, sicher alle Milzbrand- und Heubacillussporen vernichten. Mir jedoch ist es auch nicht ein einziges Mal gelungen, diese Sporen mit 99- und 80procentigem Alkohol zu vernichten. Jedoch, wie man sieht, vermochte ich nie die Prüfung mit diesem Alkohol über 40 Minuten zu verlängern, sonst hätte man die Temperatur von 120° C. und den vom Instrumente ertragbaren Druck bedeutend übertrieben.

Dieser Unterschied erklärt sich, wenn man erwägt, dass die von mir gebrauchte Technik sehr verschieden ist von jener des Dr. Repin. Dieser gebrauchte den Wasserautoclaven und an der Flamme verlöthete Probirgläser oder Stahltuben mit Schraubenverschluss, welche sehr wenig Alkohol enthielten, so dass die inficirten Fäden bloss die Wirkung der alleinigen Dämpfe fühlten, während ich den Alkoholautoclaven und offene Gläser gebrauchte, dabei die inficirten Fäden vollständig in Alkohol getaucht liess.

IV. Antiseptische Substanzen in Alkohol gelöst.

Um den baktericiden Werth der alkoholischen Lösungen der Antiseptica zu untersuchen, bediente ich mich derselben Technik, wie in der ersten Serie, nur mit Hinzufügung der Waschung, d. h. nachdem ich die



trockenen inficirten Fäden aus den Petri-Schalen genommen, brachte ich sie in Porcellanbehälter, welche 10 ^{ccm} alkoholische Antisepticalösungen von genau bekannter Concentration enthielten. Dann, nach einem bestimmten Zeitraume, nahm ich mit sterilisirten Pincetten die Fäden heraus und brachte sie für einige Minuten in andere Behälter, welche sterilisirt-destillirtes Wasser enthielten, und aus diesen kamen sie in die Bouillon.

Ich bediente mich derselben sieben Keime, wie anlässlich der vorhergegangenen Versuche, und derselben fünf Alkoholverdünnungen. Mit diesen Testobjecten machte ich auch Prüfungen mit wässerigen Lösungen der antiseptischen Substanz gleicher Concentration, um die erhaltenen Resultate der alkoholischen Lösungen mit den wässerigen unter gleichen Bedingungen vergleichen zu können. Die von mir benutzten Antiseptica waren: Carbolsäure, Sublimat, Chromsäure und Silbernitrat.

Ich gebrauchte ausschliesslich Seidenfäden, weil Metalldrähte, der Einwirkung antiseptischer, speciell mineralischer Lösungen ausgesetzt, chemische Veränderungen erfahren konnten und dadurch die Exactheit der Experimente gestört worden wäre.

Carbolsäure. Ich gebrauchte genau 3 procentige Carbolsäure (rein krystallisirt) von Schering-Berlin und verlängerte die Versuche für die nicht sporogenen Keime bis zu einer Stunde und für die sporogenen bis zu 3 Tagen. Diese Beobachtungen entfallen auf die Zeit von Januar bis April 1898. Ich gebrauchte Tetragenus aus der Cultur b, Pyocyaneus a, b, Prodigiosus b, Staphylococcus b, c, Bacterium coli a, Heubacillus a, Milzbrand c, d. (Vgl. Tabellen XII bis XVIII.)

Carbollösungen (3 procentig).

Tabelle XII.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent Alkohol
Micrococcus tetragenus — Seidenfäden.							
5 Minuten	b)	+	+	+	+		+
10 „	b)	+	+	+	–	+	+
15 „	b)	+	+	—	—	— !	+
30 „	b)	+ ?	—	—	–	+	+
1 Stunde	b)	—	—	–		+	+



Tabelle XIII.

Bacillus pyocyaneus — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
5 Minuten	a)	+	+	+	+	+	+
	b)	+	+	+	+	+	+
10 „	a)	+	+	—	+	+	+
	b)	+	+	—	—	+	+
15 „	a)	—	—	—	—	+	+
	b)	+	+	—	—	+	+
30 „	a)	—	—	—	—	+	+
	b)	+	+	—	—	+	+
1 Stunde	a)	—	—	—	—	—	+
	b)	+ ?	—	—	—	+	+

Tabelle XIV.

Micrococcus prodigiosus — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
5 Minuten	b)	+	+	+	+	+	+
10 „	b)	+	+	+	+	+	+
15 „	b)	+	+	—	—	— !	+
30 „	b)	—	—	—	—	+	+
1 Stunde	b)	—	—	—	—	+	+

Tabelle XV.

Staphylococcus pyogenes aureus — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
5 Minuten	b)	+	+	+	+	+	+
	c)	+	+	+	+	+	+
10 „	b)	+	+	+	+	+	+
	c)	+	+	+	+	+	+
15 „	b)	+	+	+	—	+	+
	c)	+	+	+	+	+	+
30 „	b)	—	—	—	—	+	+
	c)	+	+	—	+	+	+
1 Stunde	b)	—	—	—	—	+	+
	c)	+	+	—	—	+	+

Tabelle XVI.

Bacterium coli — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
5 Minuten	a)	+	+	+	+	+	+
10 „	a)	+	+	+	+	+	+
15 „	a)	+	+	+	+	+	+
30 „	a)	+	+	—	—	+	+
1 Stunde	a)	+ ?	+ ?	+ ?	—	+	+

Tabelle XVII.

Bacillus subtilis — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
1 Stunde	a)	+	+	+	+	+	+
6 Stunden	a)	+	+	+	+	+	+
12 „	a)	+	+	+	+	+	+
24 „	a)	+	+	+	+	+	+
3 Tage	a)	+	+	+	+	+	+

Tabelle XVIII.

Bacillus anthracis — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
1 Stunde	c)	+	+	+	+	+	+
	d)	+	+	+	+	+	+
6 Stunden	c)	+	+	+	+	+	+
	d)	+	+	+	+	+	+
12 „	c)	+	+				
	d)	+	+				
24 „	c)	+	+				
	d)	+	+				
3 Tage	c)	+	+	+	+	+	+
	d)	+	+	+	+	+	+

Aus diesen Untersuchungen ersieht man, dass in der 3 proc. Carbolsäure, sowohl in Wasser als in Alkohol gelöst, die widerstandsfähigen und sporogenen Keime nicht einmal nach 3 Tagen vernichtet werden, dass die nicht sporogenen in der wässerigen und in der alkoholischen Lösung zu 25, 80 und 99 Procent auch nicht nach einer Stunde mit Sicherheit abgetödtet sind. Dagegen in den alkoholischen Lösungen zu 50 und 70 Procent sterben sie mehr oder weniger schnell, d. h. der Pyocyaneus nach 15 Minuten, der Tetragenus nach 30 Minuten, der Prodigiosus, der Staphylococcus und Bact. coli nach einer Stunde.

Ich gestehe zu, dass diese Ergebnisse mit jenen anderer Experimentatoren nicht übereinstimmen und speciell mit Rücksicht auf die wässerigen Lösungen nicht conform mit der herrschenden Meinung in Bezug auf den antiseptischen Werth der Carbolsäure sind. Und doch sind die Ergebnisse mit der grössten technischen Sorgfalt erzielt und somit für mich zuverlässig.

Aus diesen Resultaten kann man nicht mit Recht folgern, dass die Carbollösungen in hochgradigem und jene in mindergradigem Alkohol die Kraft der Carbolsäure vermindern, und dass jene in mittelgradigem Alkohol sie erhöhen. Vor Allem, weil die wässerigen Lösungen sich weniger wirksam erwiesen, wie jene in 25 procent. Alkohol. Man kann in diesem

Falle (mit diesen Keimen und dieser technischen Behandlung) nicht genau die Wirkung der wässerigen Lösung feststellen, weil die Experimente nicht über die Dauer einer Stunde verlängert wurden; ferner, wenn man mit einander diese mit den Carbollösungen in Alkohol erzielten Resultate und jene im Alkohol ohne Carbolsäure gegen dieselben Keime (s. erste Serie) vergleicht, ersieht man, wie dieselben nahezu gleich sind.

Man kann somit annehmen, dass die erzielten Wirkungen mehr dem Alkohol zuzuschreiben sind, als dem in ihm gelösten Antisepticum. Das beweist vielleicht, dass die baktericide Wirkung der 3 procent. Carbolsäure jener des mittelgradigen Alkohols gleich ist, wenn nicht geringer. Darum haben diese Experimente keinen Werth, um den Satz zu bestätigen oder zu bekämpfen, dass der Alkohol je nach den verschiedenen Concentrationen die Wirkung der Antiseptica vermindert oder erhöht.

In dieser Erwägung unternahm ich keinerlei Versuche mit schwachen Antisepticis, wie z. B. Tymol oder Lysol, sondern nur mit den energischsten antiseptischen Mineralien.

Quecksilbersublimat. Ich habe die Wirkung der exacten Sublimatlösungen von 1 pro mille studirt, habe die Versuche mit nicht sporogenen Keimen bis zu 30 Minuten und für die sporogenen bis zu 1 Tage verlängert (zum Theil im December 1897, zum Theil im April 1898). Ich arbeitete mit Tetragenus (Cultur a), Pyocyaneus (Cultur a), Prodigiosus (Cultur a), Staphylococcus (Culturen b und c), Bact. coli (Cultur a), Heubacillus (Cultur a), Milzbrand (Culturen c und d). (Vgl. Tabellen XIX bis XXV.)

Sublimatlösungen (1 pro mille).

Tabelle XIX.

Micrococcus tetragenus — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
5 Minuten	a)	—	—	—	—	+	+
10 „	a)	—	—	—	—	+	+
15 „	a)	—	—	—	—	+	+
30 „	a)	—	—	—	—	—	—

Tabelle XX.

Bacillus pyocyaneus — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
5 Minuten	a)	—	—	+	+	+	+
10 „	a)	—	—	—	—	+	+
15 „	a)	—	—	—		—	—
30 „	a)	—	—	—	—		



Tabelle XXI.

Micrococcus prodigiosus — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
5 Minuten	a)	—	—	+	+	+	+
10 „	a)	—	—	—	—	+	+
15 „	a)	—	—	—	—	+	+
30 „	a)	—	—	—	—	—	—

Tabelle XXII.

Staphylococcus pyogenes aureus — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
5 Minuten	b)	—	—	+	—	+	+
	c)	—	—	+	+	+	+
10 „	b)	—	—	—	—	— !	+
	c)	—	—	+	+	+	+
15 „	b)	—	—	—	—	+	—
	c)	—	—	—	—	+	+
30 „	b)	—	—	—	—	—	—
	c)	—	—	—	—	—	—

Tabelle XXIII.

Bacterium coli — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
5 Minuten	a)	—	—	+	+	+	+
10 „	a)	—	—	—	—	+	+
15 „	a)	—	—	—	+ !	—	—
30 „	a)	—	—	—	—	—	+

Tabelle XXIV.

Bacillus subtilis — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
10 Minuten	a)	+	+	+	+	+	+
30 „	a)	—	—	+	+	+	+
1 Stunde	a)	—	—	—	+ ?	+	+
6 Stunden	a)	—	—	—	—	+	+
12 „	a)	—	—	—	—	+	+ ?
24 „	a)	—	—	—	—	— ?	+ ?

Tabelle XXV.

Bacillus anthracis — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
10 Minuten	c)	+	+	+	+	+	+
	d)	+	+	+	+	+	+
30 „	c)	—	—	—	+	+	+
	d)	— ?	—	+	+	+	+
1 Stunde	c)	—	—	—	—	— ?	+
	d)	—	—	—	—	+	+
6 Stunden	c)	—	—	—	—	—	+ ?
	d)	—	—	—	—	+	+
12 „	c)	—	—	—	—	+ ?	+ ?
	d)	—	—	—	—	+	+
24 „	c)	—	—	—	—	—	+ ?
	d)	—	—	—	—	+ ?	+ ?

Wie man sieht, vernichtet das 1 pro mille Sublimat, sei es in Wasser oder in 25 procent. Alkohol gelöst, unfehlbar alle nicht sporogenen Keime in weniger als 5 Minuten und die sporogenen innerhalb 10 und 15 Minuten. Im mittelgradigen Alkohol (50- oder 70 procent.) wird der Tetragenus und Pyocyaneus in weniger als 5 Minuten vernichtet, der Prodigiosus, Staphylococcus und Bact. coli innerhalb 10 und 15 Minuten, der Heu- und Milzbrandbacillus innerhalb 30 und 60 Minuten. In den hochgradigen Alkohollösungen (80- und 99 procent.) werden die nicht sporogenen Keime oftmals in 30 Minuten zerstört und die sporogenen mit Sicherheit nicht einmal in 24 Stunden. Somit steht die antiseptische Wirkung der sublimat-alkoholischen Lösungen im umgekehrten Verhältnisse zu der Concentration des Alkohols.

Chromsäure. Ich arbeitete mit exacten Lösungen von 1 procent. Chromsäure, rein krystallisirt (Merk-Darmstadt). Die Chromsäurelösungen im Wasser und im sehr verdünnten Alkohol sind durchsichtig und verhältnissmässig wenig intensiv gefärbt, während jene im hochgradigen Alkohol trübe und fast schwärzlich sind.

Es ist ferner zu bemerken, dass die Chromsäure bei ihrer Berührung mit hochgradigem Alkohol ein zischendes Geräusch verursacht, ähnlich jenem eines glühenden Eisendrahtes im Wasser (Untersuchungen Januar und Februar 1898).

Ich habe diese Untersuchungen mit nicht sporogenen Keimen bis zu 1 Stunde (es fehlen jene mit dem Bact. coli) und mit sporogenen bis zu 24 Stunden ausgedehnt; jedoch sind diese letzteren unvollständig, weil ich keine Intermedialprüfungen zwischen 1 bis 24 Stunden vorgenommen habe.

Ich musste die Waschung in destillirtem Wasser auf längere Zeit ausdehnen, um die Reste der Chromsäure gänzlich zu entfernen, insbesondere bei den mit hochgradigem Alkohol behandelten Fäden, welche fast vollständig mit einer dichten schwarzen Pattina überzogen waren.

Ich gebrauchte Tetragenus (Cultur a), Pyocyaneus (Cultur a), Prodigiosus (Cultur a), Staphylococcus (Cultur b), Heubacillus (Cultur a), Milzbrand (Cultur c). (Vgl. Tabellen XXVI bis XXXI).

Chromsaure Lösungen (1 procentig).

Tabelle XXVI.

Micrococcus tetragenus — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
5 Minuten	a)	—	—	+	+	+	+
10 „	a)	—	—	+	+	+	+
15 „	a)	—	—	—	+	+	+
30 „	a)	—	—	—	—	+	+
1 Stunde	a)	—	—	—	—	+	+



Tabelle XXVII.

Bacillus pyocyaneus — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
5 Minuten	a)	—	—	+	+	+	+
10 „	a)		—	—	+	+	+
15 „	a)	—	—	—	+ ?	+	— !
30 „	a)	—	—	—	—	+	+
1 Stunde	a)	—	—	—	—	+	+

Tabelle XXVIII.

Micrococcus prodigiosus — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
5 Minuten	a)	—	—	+	+	+	+
10 „	a)	—	—	+	— !	+	+
15 „	a)	—	—	—	+	+	+
30 „	a)	—	—	—	+	+	+
1 Stunde	a)	—	—	—	—	+	+

Tabelle XXIX.

Staphylococcus pyogenes aureus — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
5 Minuten	b)	—	+ ?	+	+	+	+
10 „	b)	—	+ ?	+	+	+	+
15 „	b)	—	—	—	+	+	+
30 „	b)	—	—	—	—	+	+
1 Stunde	b)	—	—	—	—	— ?	+

Tabelle XXX.

Bacillus subtilis — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
1 Stunde	a)	—	—	+	+	+	+
24 Stunden	a)	—	—	—	—	+	+

Tabelle XXXI.

Bacillus anthracis — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
1 Stunde	c)	+	+	+	+	+	+
24 Stunden	c)	—	—	—	+ ?	+	+

Auch die 1 procent. Chromsäure ist, wie man sieht, ein kräftiges Antisepticum. In den wässerigen Lösungen und jenen in geringgradigem Alkohol (25 procent.) hat sie fast alle nicht sporogenen Keime in weniger als 5 Minuten vernichtet und von den sporogenen Keimen den Heubacillus in weniger als 1 Stunde. Die Lösungen im mittelgradigen Alkohol (50- und 70 procent.) zerstören die nicht sporogenen Keime meistens in weniger als 1 Stunde und die sporogenen fast sicher innerhalb 24 Stunden.



Die Lösungen mit hochgradigem Alkohol (80- und 99 procent.) erwiesen sich beständig ungenügend, auch in der grössten Zeitdauer der Experimente, sei es gegen sporogene oder nicht sporogene Keime. Jedoch zweifle ich hierbei, ob jene Lösung der Chromsäure in hochgradigem Alkohol eine wirkliche Lösung sei oder nicht, vielleicht eine complicirtere chemische Verbindung.

Auch für dieses Antisepticum resultirt, dass die grösste baktericide Wirkung in den wässerigen Lösungen entfaltet wird, und dass sie sich im selben Verhältniss vermindert, als die Concentration des Alkohols sich vermehrt.

Silbernitrat. Ich arbeitete mit exacten $^1/_{250}$ procent. Silbernitratlösungen. Dieses Salz löst sich in Wasser und sehr verdünntem Alkohol sehr leicht, aber sehr langsam und schwer in concentrirtem Alkohol. Ich sorgte dafür, die Lösungen vor Licht zu schützen, um die Silberreducirung zu vermeiden. Für die nicht sporogenen Keime verlängerte ich diese Versuche bis zu 15 Minuten und für die sporogenen bis zu 1 Stunde (Mai 1898).

Auch bei diesen Prüfungen musste ich die Waschungen mit destillirtem Wasser verlängern, um von den Fäden jedes Ueberbleibsel von Silbersalz zu entfernen, denn auch minimale Spuren hiervon, in Bouillon gelöst, stören merklich die Experimente.

Ich gebrauchte Tetragenus (Cultur b), Pyocyaneus (Cultur b), Prodigiosus (Cultur b), Staphylococcus (Cultur c), Bact. coli (Cultur a), Heubacillus (Cultur b), Milzbrand (Cultur d). (Vgl. Tabellen XXXII bis XXXVIII.)

Silbernitratlösungen (1 pro 250).

Tabelle XXXII.

Micrococcus tetragenus — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
5 Minuten	b)	—	—	—	+	+	+
10 „	b)	—	—	—	—	+	+
15 „	b)	—	—	—	—	+	+

Tabelle XXXIII.

Bacillus pyocyaneus — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
5 Minuten	b)	—	—	—	—	+	+
10 „	b)	—	—	—	—	+	+
15 „	b)	—	—	—	—	—	+



Tabelle XXXIV.

Micrococcus prodigiosus — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
5 Minuten	b)	—	—	—	+	+	+
10 „	b)	—	—	—	—	+	+
15 „	b)	—	—	—	—	+	+

Tabelle XXXV.

Staphylococcus pyogenes aureus — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
5 Minuten	c)	—	—	+	+	+	+
10 „	c)	—	—	—	+	+	+
15 „	c)	—	—	—	—	+	+

Tabelle XXXVI.

Bacterium coli — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
5 Minuten	a)	—	—	+	+	+	+
10 „	a)	—	—	—	—	+	+
15 „	a)	—	—	—	—	+	+

Tabelle XXXVII.

Bacillus subtilis — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
10 Minuten	b)	—?	+	+	+	+	+
30 „	b)	—	—	—	+	+	+
1 Stunde	b)	—	—	—	—	+	+

Tabelle XXXVIII.

Bacillus anthracis — Seidenfäden.

Zeit		Wasser	25 procent. Alkohol	50 procent. Alkohol	70 procent. Alkohol	80 procent. Alkohol	99 procent. Alkohol
10 Minuten	d)	+	+	+	+	+	+
30 „	d)	—	—	+	+	+	+
1 Stunde	d)	—	—	—	—	+	+

Auch das Silbernitrat in Lösungen zu $^1/_{250}$ ist, wie man sieht, ein mächtiges Antisepticum, wie schon Behring im Jahre 1887 bewies.

In den wässerigen und 25 procent. Alkohollösungen hat das Silbernitrat unfehlbar alle nicht sporogenen Keime in weniger als 25 Minuten und die sporogenen in weniger als 30 Minuten vernichtet.

In dem mittelgradigen Alkohol (50- und 70procent.) wurden die nicht sporogenen Keime innerhalb 10 bis 15 Minuten zerstört, die sporogenen innerhalb 30 Minuten bis 1 Stunde. Bei den hochgradigen Alkohollösungen (80- und 99procent.) aber widerstanden die sporogenen und oft auch die nicht sporogenen Keime bis zur längsten Dauer der Experimente (welche, um die Wahrheit zu sagen, etwas allzu kurz war).

Auch bei diesem Antisepticum erweist sich das Maximum der Wirkung in den wässerigen Lösungen und ihre fortschreitende Verminderung mit der wachsenden Mehrgradigkeit der Alkohollösungen.

Wenn ich nun die Ergebnisse der gemachten Versuche mit antiseptischen Lösungen zusammenfasse, ohne jene zu berücksichtigen, die mit Carbolsäure gemacht wurden, kann man die Epstein'sche Ansicht, „dass die in Alkohol zu 50 Procent gelösten antiseptischen Substanzen eine grössere Wirkung hätten, nicht nur als jene in hochgradig concentrirtem Alkohol, sondern auch als jene in mindergradigem Alkohol und jene in Wasser", nicht für richtig annehmen und muss man vielmehr zur früheren allgemeinen Koch'schen Ansicht zurückgreifen, dass der Alkohol immer die Macht der Antiseptica vermindert.

Wenn man im Uebrigen aufmerksam die Epstein'sche Arbeit übersieht und seine Untersuchungen mit Carbolsäure, Lysol und Thymol nicht in Erwägung zieht, sondern bloss jene mit Sublimatlösungen, kann man beobachten, dass eigentliche grosse Unterschiede zwischen den Resultaten, erzielt mit im Wasser gelösten Sublimat und dieses in Alkohol zu 25 und 50 Procent gelöst, nicht existiren, und dass vielmehr eine der Untersuchungen (vgl. IV., Epstein'sche Tabelle) gegen seine Schlussfolgerungen spricht, und dass schliesslich die Zeitunterschiede zwischen den Experimenten von 3 und von 5 Minuten allzu kurz sind.

Meine Schlussergebnisse, die ich aus den hier mitgetheilten Untersuchungen ziehe, sind:

1. Der Aethylalkohol hat im Allgemeinen eine sehr geringe baktericide Wirkung. Bei normaler Temperatur vermag er die nicht sporogenen Keime zu vernichten, nicht aber die sporogenen. Seine Action ist in den mittleren Concentrationen (50 bis 70 Procent) viel kräftiger, als in den geringeren oder höheren; geradezu minimal in absolutem Alkohol.

2. Der siedende oder unter Druck erhitzte Alkohol wird im selben Maasse baktericide wirken, als die Wasserpercentualität, die er enthält, grösser ist.

3. Die antiseptischen Substanzen, in Alkohol gelöst, verlieren merklich ihre Kraft im Vergleiche zu den wässerigen



Lösungen. Die baktericide Wirkung der alkoholischen Lösungen ändert sich im umgekehrten Verhältnisse zu dem Grade des Alkohols.

Die Gründe dieser Unzulänglichkeit des Alkohols sind bis heute noch unbekannt, vielleicht sind es physikalische Bedingungen, wie die Zusammenziehung der Keim- und Sporenkapsel, das verhinderte Eindringen der Flüssigkeit, die verhinderte osmotische Strömung oder Gründe chemischer Natur, die wir gleichfalls nicht kennen, vielleicht jenen gleich, um derentwillen die Färbung oder Entfärbung der Keime und Kerne in absolutem Alkohol mit etlichen Anilinfarbstoffen nicht erfolgt, aber noch wahrscheinlicher wirken hierbei verschiedene Gründe zusammen mit.

Wenn wir so wenig von dem Actionsmechanismus der Antiseptica wissen, wenn wir noch nicht ausreichend die Keimchemie kennen, wenn alle innersten Details der Mikrochemie uns noch ein Geheimniss sind, ist es vielleicht ein übereilt eitler Anspruch, eine Erklärung für diese Wirkung des Alkohols finden zu wollen. Vorläufig ist es besser, sich mit den exacten Beobachtungen thatsächlicher Natur zu begnügen.

Zum Schlusse spreche ich Hrn. Prof. Dr. D. Morisani meinen aufrichtigsten Dank aus.

Genua, Juni 1898.



Litteratur-Verzeichniss.

Ahlfeld, Die Desinfection des Fingers und der Hand u. s. w. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1893. Nr. 51.

Ahlfeld und Vahle, Die Wirkung des Alkohols bei der geburtshülflichen Desinfection. *Ebenda.* 1897. Nr. 6.

Behring, Die antiseptischen Werthe der Silberlösungen u. s. w. *Ebenda.* 1887. Nr. 37 u. 38.

Derselbe, Ueber Desinfection, Desinfectionsmittel und Desinfectionsmethoden. *Diese Zeitschrift.* 1890. Bd. IX.

Epstein, Zur Frage der Alkoholdesinfection. *Ebenda.* 1897. Bd. XXIV.

Esmarch, Die Milzbrandsporen als Testobject bei Prüfung von Desinficientien. *Ebenda.* 1888. Bd. V.

Fürbringer, *Untersuchungen u. Vorschriften über die Desinfection der Hände des Arztes.* Wiesbaden 1888.

Geppert, Zur Lehre von den Antisepticis. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1889. Nr. 36 u. 37.

Grüber, Ueber die Methoden der Prüfung von Desinfectionsmitteln. *VII. Congr. d'Hygiene Demografie.* London 1891.

Koch, Ueber Desinfection. *Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* Berlin 1881.

Krönig, *Centralblatt für Gynäkologie.* 1893.

Landsberg, Zur Desinfection der menschlichen Haut u. s. w. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1888. Nr. 7.

Lenti, De l'influence de l'alcohol etc. sur l'action des desinfectants. *Revue d'Hygiene.* 20. Dec. 1893.

Leedham-Green, Versuche über Spiritus-Desinfection. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1896. Nr. 23.

Reinicke, Bakteriologische Untersuchungen über die Desinfection der Hände. *Centralblatt für Gynäkologie.* 1894.

Repin, Un procédé sur de sterilisation du catgut. *Annales de l'Inst. Pasteur.* 1894.

Schäffer, Ueber den Desinfectionswerth des Aethylendiaminsilberphosphats u. s. w. *Diese Zeitschrift.* 1894. Bd. XVI.

Schmitt, Chirurgische Mittheilungen für die Praxis. *Münchener med. Wochenchrift.* 1896.



Berichtigung

zu dem Aufsatze über Impfungen zum Schutz gegen den Rothlauf der Schweine und zur Kenntniss des Rothlaufbacillus von O. Voges und W. Schütz in Berlin.[1]

Von

Obermedicinalrath **Lorenz**
in Darmstadt.

Auf S. 43 ist als Anmerkung 2 angeführt: „Emmerich und Mastbaum, die Ursache der Immunität, die Heilung von Infectionskrankheiten, speciell des Rothlaufs der Schweine und ein neues Schutzimpfungsverfahren gegen diese Krankheit, 1890."[2]

Auf S. 45 heisst es: „Mit dem Bekanntwerden der Emmerich'schen genialen Untersuchungen war ein neuer Weg gegeben, um zu praktisch brauchbaren Resultaten bei den Bestrebungen zu kommen, Schweine gegen den Rothlauf zu immunisiren; Lorenz baute auf den Erfahrungen seiner Vorgänger weiter und schuf die nach ihm benannte Methode.

Hatte Emmerich nachgewiesen, dass das Serum immunisirter Thiere schützende Eigenschaften besitzt, so zeigten die Arbeiten der Behring'schen Richtung, dass die durch Serumeinspritzungen zu erzielende passive Immunität nur von vorübergehender Dauer ist u. s. w."

Zunächst ist als berichtigend hier anzuführen, dass die oben citirte Arbeit von Emmerich und Mastbaum nicht 1890, sondern 1891 und zwar im dritten Heft des XII. Bande des „Archivs für Hygiene" erschien, welches in der zweiten Hälfte des Monats Mai 1891 zur Ausgabe gelangte.

Meine erste Arbeit[3] über Rothlauf, welche gegen Jahresschluss 1891 erschienen ist, enthält auf S. 55 ff. die Resultate meiner Versuche, mit Blut immunisirter Kaninchen bei grauen Mäusen Immunität gegen Rothlauf,

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXVIII.
[2] *Archiv für Hygiene.* 1890. Bd. XII.
[3] *Archiv für wissenschaftl. u. prakt. Thierheilkunde* 1892. Bd. XVIII. Hft. 1.



Backsteinblattern und Mäusesepticämie zu erzeugen. Aus der Arbeit selbst geht hervor, dass jene Versuche am 27. März 1891 begonnen wurden. Soweit in dem hier angeführten Aufsatz über Versuche berichtet ist, waren diese bis Ende Mai 1891 beendet. Ich konnte damals schon einige Schlüsse aus meinen Versuchsresultaten ziehen, die heute noch als feststehend gelten, z. B. „dass in dem Blute der Kaninchen, die eine der angegebenen Krankheiten überstehen, sich ein Stoffwechselproduct bildet, welches das Bestreben des Blutes, die Krankheitskeime zu vernichten und entwickelungshemmend auf sie einzuwirken, sowie vielleicht auch die von diesen gebildeten oder hervorgerufenen schädlichen Stoffwechselproducte zu paralysiren, wirksam unterstützt." Meine Versuche hatten ferner gezeigt, „dass das wirksame Agens dem Blute der immunisirten Kaninchen nicht dauernd anhaftet, sondern allmählich aus demselben verschwindet, dass aber in ihnen die Fähigkeit, das fragliche Agens auf Anregung einer späteren Infection wieder frisch zu bilden, eine mehr dauernde ist. Schon eine verhältnissmässig kleine Menge dieses Agens, nicht immunen Mäusen beigebracht, machte dieselben auf kurze Zeit widerstandsfähig gegen eine Infection, vermochte sie jedoch nicht auf längere Zeit immun zu machen, sondern verschwand scheinbar nach 15 bis 20 Tagen aus dem Mäusekörper ohne demselben die Fähigkeit zu verleihen, auf Anregung einer Infection es wieder zu erzeugen. Diese Fähigkeit erwächst erst nach einer gleichzeitig mit der Uebertragung des Blutes vorgenommenen Impfung und einer bald darauf erfolgten Wiederholung der letzteren." Diese und andere Wahrnehmungen, worunter auch die, „dass die Schutzkraft des Blutes dem Serum anhaftet," hatte ich aus eigenen Versuchen bereits bis Ende Mai 1891 gemacht, also zu einer Zeit, in der über gleiche Beobachtungen Anderer mir noch gar nichts bekannt sein konnte, abgesehen von einer Ende Februar oder Anfangs März 1891 in der „Frankfurter Zeitung" erschienenen kurzen Notiz von der Entdeckung der Heilkraft des Blutes gegen Diphtherie und Tetanus immunisirter Thiere durch Behring und Kitasato. Dass ich auf diese Notiz hin meine bezüglichen Versuche begonnen, habe ich nie in Abrede gestellt, ja sogar öfters hervorgehoben. Dass ich aber weiterer Feststellungen Anderer nicht bedurft hatte, um eine Schutzimpfungsmethode gegen den Schweinerothlauf aus meinen Versuchsergebnissen zu entwickeln, geht schon aus der einen Feststellung hervor, dass ich bereits Ende Mai 1891 wusste, dass man Mäuse durch Einspritzung immunisirenden Serums und gleichzeitige Infection mit Roth-



lauf gegen diesen immunisiren kann — eine Behauptung, der man lange keinen Glauben geschenkt hat, bis man im vorigen Jahre die Uebertragung dieser Methode auf die Immunisirung gegen Rinderpest und Maul- und Klauenseuche erlebte. Thatsächlich sind aber schon im Sommer 1892 derartige Schutzimpfungsversuche gegen Rothlauf bei Schweinen in der Praxis ausgeführt worden.

Wer das Resultat der Emmerich'schen Untersuchungen, von denen die Verfasser Voges und Schütz reden, näher betrachtet, der wird bei einem Vergleich mit meinen Versuchen sofort erkennen, dass diese ganz unabhängig von jenen angestellt wurden. In der citirten Arbeit von Emmerich und Mastbaum heisst es: „Wenn es nämlich richtig ist, dass im immunisirten Thierkörper die Rothlaufbacillen durch ein von den Körperzellen producirtes, im intracellulären Saftstrom kreisendes chemisches Gift vernichtet werden, dann muss der Gewebssaft immunisirter Thiere und vielleicht auch das Blut ein Heilmittel für den zum Ausbruch gekommenen Rothlauf sein." Emmerich legt in jener Arbeit überhaupt den Schwerpunkt auf den Gewebssaft der immunisirten Thiere, den er (S. 298) dadurch gewinnt, dass er die immunisirten, durch Erhängen getödteten Thiere nach vorheriger sorgfältiger Reinigung abzieht, mit allen Organen zerstückelt, durch eine Fleischhackmaschine treibt und schliesslich in einer hydraulischen Presse bei einem Druck von 300 bis 400 Atmosphären auspresst. Auf S. 325 ist gesagt: „Da man den von immunisirten Kaninchen stammenden Gewebssaft auch zur Schutzimpfung von weissen Mäusen mit bestem Erfolg verwenden kann, so wird derselbe voraussichtlich auch zur Schutzimpfung von Schweinen verwerthbar sein. — Wenn unter den Schweinen eines Landwirths der erste Fall von Rothlauf auftritt, wird derselbe die übrigen sofort mit Gewebssaft immunisirter Kaninchen impfen und so den Ausbruch der Epizootie verhüten können." Hiernach aber ist erwiesen, dass ich zur Zeit, als die Emmerich'sche Arbeit erschien, dieser mit meinen Resultaten längst voraus war.

Der letzterwähnte Umstand hätte einem der Verfasser des in Rede stehenden Aufsatzes, Hrn. Geheimen Regierungsrath Prof. Dr. Schütz wohl bekannt sein dürfen; denn ihm, als dem Herausgeber des „Archivs für wissenschaftliche und praktische Thierheilkunde", hatte ich bereits Ende Mai 1891 meine Arbeit zum Abdruck in dieser Zeitschrift zugesandt. Ich besitze hierüber eine Mittheilung von Hrn. Schütz vom 5. Juni 1891, worin er schreibt: „Ihre Arbeit habe ich erhalten, auch gelesen und ich brauche wohl nicht zu versichern, dass ich mit grossem Interesse Ihren Versuchen gefolgt bin. Die Arbeit kann leider in das nächste Heft nicht aufgenommen werden,



weil der Druck desselben fast beendet ist.“ — Im Laufe des Monats Juni 1891, nachdem meine Arbeit bereits im Besitz des Hrn. Schütz war, bekam ich die Emmerich'sche Arbeit zu lesen. Es gab mir dies Veranlassung, meiner Arbeit noch eine Bemerkung mit Bezug auf diese Arbeit beizufügen, und ich liess mir bei einer gelegentlichen Anwesenheit in Berlin die meinige von Hrn. Schütz selbst einhändigen. Ich habe nur einige Worte auf S. 59, sowie einen kleinen Nachtrag auf S. 62 beigefügt und nach wenigen Tagen meine Arbeit wieder Hrn. Schütz zugesandt, worauf ich wieder eine Empfangsbescheinigung vom 9. Juli 1891 erhielt, die ich ebenfalls noch besitze. Ich hatte mich mit der Einsendung beeilt, damit nicht abermals eine Verzögerung in der Veröffentlichung eintreten möge. Bei letzterer Unterstellung hatte ich mich allerdings getäuscht, denn der Abdruck erfolgte erst ein halbes Jahr später im ersten Heft des XVIII. Bandes (1892), soweit mir bekannt, Ende December 1891. In Folge dieser verspäteten Veröffentlichung meiner Arbeit habe ich meine späteren Arbeiten in einer anderen Zeitschrift zum Abdruck bringen lassen.

Es war nicht meine Absicht, die hier zuletzt dargelegten Umstände der Oeffentlichkeit zu übergeben. Die einmal begonnenen Arbeiten hatten mich zu sehr in Anspruch genommen, um mich ohne besondere Veranlassung in Auseinandersetzungen zu verlieren. Ich konnte mit den Erfolgen zufrieden sein, die meine mühevollen und ohne jede Hülfe zur Ausführung gebrachten Versuche gezeitigt hatten. In meinen Publicationen hierüber habe ich mich nie gescheut, die Wahrheit zu pflegen, auch wenn es galt begangene Fehler einzugestehen. Schon aus diesem Grunde glaube ich, von einer Entgegnung auf die Angriffe der Herren Voges und Schütz gegen das aus meinen Arbeiten erstandene, fast allenthalben als gut erkannte Schutzimpfungsverfahren absehen zu können. Gegen die Behauptung aber, dass ich mein ganzes System auf den Arbeiten Anderer aufgebaut habe, musste ich doch auftreten, und es bedurfte dazu auch der Auffrischung jener Erinnerung an das Schicksal meiner ersten Arbeit über Rothlaufimmunisirung.

Darmstadt, den 29. Juli 1898.

Dr. Lorenz.



Erwiderung auf vorstehende Berichtigung.

Von

Schütz.

Hr. Obermedicinalrath Lorenz sagt in seiner Berichtigung: „Hiernach aber ist erwiesen, dass ich zur Zeit, als die Emmerich'sche Arbeit erschien, dieser mit meinen Resultaten längst voraus war. Der letzterwähnte Umstand hätte einem der Verfasser des in Rede stehenden Aufsatzes, Hrn. Geheimen Regierungsrath Prof. Dr. Schütz, wohl bekannt sein dürfen. . . .“

Beides ist nicht richtig.

Im Jahre 1887 erschien die Arbeit von Emmerich und di Mattei,[1] in welcher über das Ergebniss zahlreicher Versuche Folgendes berichtet wird:

„Das Gleiche ist bei gegen Schweinerothlauf immun gemachten Kaninchen der Fall, wenn man denselben grosse Mengen virulenter Bacillen injicirt.

Hier erfolgt der Untergang der Bacillen im subcutanen Gewebe der Injectionsstelle noch rascher (in 4 bis 5 Stunden). . . . Die betreffenden Versuche werden baldigst publicirt werden.

Wodurch werden nun aber die Bacillen in so kurzer Zeit im subcutanen Gewebe getödtet?

Wir sind ebenfalls der Ueberzeugung, dass hierbei die Phagocyten keine Rolle spielen, dass sie vielmehr erst die schon todten Bacillen aufnehmen und aus dem Körper schaffen. . . .

---

[1] Emmerich und di Mattei, Vernichtung von Milzbrandbacillen im Organismus. *Fortschritte der Medicin.* 1887. Nr. 20.



Dass es nicht die eigenen Stoffwechselproducte der Bakterien sind, durch welche dieselben im Körper getödtet werden, das beweist insbesondere der rasche Untergang der Schweinerothlaufbacillen im immun gemachten Thierkörper. Der Absterbeprocess der Bacillen beginnt hier sofort, nachdem sie in den Körper gebracht wurden, und er ist in 4 bis 5 Stunden vollendet. . . .

Durch den Reiz der erstmaligen Injection von Schweinerothlaufbacillen wird eine langdauernde Aenderung in der Function der Körperzellen verursacht. . . .

Es ist denkbar, dass im nichtimmunen Organismus die von den Schweinerothlaufbacillen auf die Körperzellen ausgeübten Reize die Production eines für die Körperzellen giftigen, für die Bakterien aber unschädlichen Alkaloids verursachen, während die Körperzellen des immunen Thieres in Folge geringfügiger Veränderungen, welche die erste Infection hinterlassen hat, auf die gleichen Reize hin ein für sie selbst ungiftiges, für die Bakterien aber giftiges Alkaloid produciren."

Noch Genaueres darüber, in welchem Jahre die Versuche begonnen wurden, welche zu den überraschenden Ergebnissen über das Wesen der Immunität beim Schweinerothlauf geführt hatten, ergiebt die Einleitung jener selben Veröffentlichung von Emmerich und di Mattei:

„Wir haben nun die im vorigen Jahre (d. i. 1886) begonnenen Heilversuche auch auf andere Infectionskrankheiten ausgedehnt, insbesondere aber Untersuchungen über die Ursache und das Wesen des Kampfes der Körperzellen und der pathogenen Bakterien angestellt." Und in Uebereinstimmung damit steht die Bemerkung von Emmerich und Mastbaum in ihrer später zu besprechenden Mittheilung vom Jahre 1891, dass die Versuche zur Erforschung der Ursache der Immunität im Jahre 1886 begonnen seien.

Im Jahre 1888 veröffentlichten Emmerich und di Mattei[1] einen grösseren Theil ihrer mühevollen Versuche. Die Forscher theilten mit, dass sie den Kaninchen, „deren Schutzimpfung leicht und sicher gelingt" (S. 730), die Rothlaufbacillen auch in die Blutbahn eingespritzt haben, um erstere immun zu machen (S. 733 und 734), und dass sie die bakterientödtende Wirkung des immunisirten Thierkörpers durch subcutane und intravenöse Injection der lebenden Rothlaufbacillen geprüft haben. Ja, die Forscher sagten sogar, „dass das im immunisirten Thierkörper kreisende Blut die in dasselbe eindringenden Rothlaufbacillen in wenigen Minuten tödtet" (S. 744), und dass „der deletäre Einfluss dieses Blutes

[1] Emmerich u. di Mattei, Untersuchungen über die Ursache der erworbenen Immunität. *Fortschritte der Medicin.* 1888. Nr. 19.



wohl bemerkbar war, wenn die Rothlaufbacillen in das Blut injicirt und die Blutproben erst nach der Injection entnommen wurden" (S. 744 und 745). Sie konnten auch die erst viel später bestätigte Thatsache feststellen, dass Blut, welches man aus dem immunisirten Thierkörper entnommen hat, nicht im Stande ist, lebende Rothlaufbacillen ausserhalb des Thierkörpers zu tödten, dass also das „antibakterielle Gift" in dem abgelassenen Blute im inactiven, in dem circulirenden Blute aber im activen Zustande enthalten ist (S. 744).

Am Schlusse der Arbeit wiederholten Emmerich und di Mattei die aus allen ihren Versuchen abgeleiteten Schlussfolgerungen in folgender Weise (S. 745):

„In dem durch die Schutzimpfung gegen Schweinerothlauf immun gewordenen Kaninchenkörper werden die zum wiederholten Male eindringenden Rothlaufbacillen binnen 15 bis 25 Minuten vernichtet.

Dabei ist es gleichgültig, ob nur wenige oder ob eine enorme Zahl von Bacillen (wie sie bei der natürlichen Infection nicht im Entferntesten in Betracht kommt) injicirt werden. Der Untergang erfolgt durch die Reaction der immunisirten Körperzellen auf die von den Bacillen abgesonderten Reizstoffe, indem die Zellen wahrscheinlich ein lösliches antibakterielles Gift bilden." . . .

Damit war offenbar die Hauptsache erledigt.

Bald darauf versuchte Metchnikoff[1] die Ansichten von Emmerich und di Mattei über das Zustandekommen der Immunität bei immun gemachten Thieren zu widerlegen. In Folge dessen veröffentlichte Emmerich,[2] diesmal in Verbindung mit Mastbaum, einen anderen Theil der Versuche (S. 277, 292 und 304). Er widerlegte die Einwendungen von Metchnikoff, wiederholte die in seinen früheren Arbeiten ausgesprochenen Ansichten und erklärte in Betreff der früheren Versuche, dass „nur solche Versuche für die Frage über die Lebensdauer der Rothlaufbacillen von entscheidender Bedeutung sind, bei welchen die Bacillen intravenös injicirt wurden" (S. 283).

Ferner kann sich ein jeder Leser überzeugen, dass nicht nur Gewebssaft, sondern auch Blut immun gemachter Kaninchen zur Heilung des Rothlaufes der Schweine angewandt wurde.

Vergegenwärtigt man sich nun, dass Hr. Lorenz seine Arbeit Ende Mai 1891, wie er selbst angiebt, mir zum Drucke

---

[1] Metchnikoff, Études sur l'immunité. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1889.

[2] Emmerich und Mastbaum, Die Ursache der Immunität, die Heilung von Infectionskrankheiten, speciell des Rothlaufs der Schweine, und ein neues Schutzimpfungsverfahren gegen diese Krankheit. *Archiv für Hygiene.* 1891. S. 275.



überreicht und in dieser Arbeit selbst mitgetheilt hat, dass er seine Versuche am 27. März 1891 begonnen habe, so ist doch offenbar, dass nicht Lorenz, sondern Emmerich mit den Resultaten weit vorangeeilt war.

Zum Schlusse noch Folgendes. Der im Jahre 1887 erschienene Aufsatz von Emmerich und Di Mattei schliesst mit folgender Bemerkung:

„Das ist zugleich die Richtung, in der wir vorgehen müssen, um zu einer Heilmethode der betreffenden Infectionskrankheiten zu gelangen; denn wir können die Verbindungen, welche im Körper des immunen Thieres in ein paar Stunden Millionen der specifischen Infectionserreger vernichten, auch nach dem Ausbruche der Krankheit in den Organismus einführen, um dieselbe zu coupiren und zu heilen."

Also sind die im Jahre 1886 begonnenen Versuche Emmerich's über die Immunisirung gegen den Schweinerothlauf bezw. über die Heilung desselben die ersten gewesen auf derjenigen Grundlage, auf welcher auch alle ähnlichen späteren Versuche beruhen. Mittels ebensolcher Methode haben dann auch Andere, z. B. Koch und Löffler, Rinder gegen die Rinderpest bezw. gegen die Maul- und Klauenseuche immun gemacht, und auf solcher Methode beruht auch das Verfahren von Lorenz. Aber nach dem wissenschaftlichen Brauche gebührt das Verdienst der Methode demjenigen, der dieselbe zuerst angewandt und veröffentlicht hat.

Was den Schluss der Lorenz'schen Berichtigung betrifft, so habe ich nur zu bemerken, dass die Drucklegung der Lorenz'schen Arbeit im Jahre 1891 durch Hrn. Geheimrath Müller erfolgt ist und ich selbst gar nichts mit dieser Drucklegung zu schaffen gehabt habe.



[Aus dem Königl. hygienischen Institut der Universität zu Königsberg i/Pr.]
(Director: Prof. Dr. E. v. Esmarch.)

Ueber die Steigerung der Giftproduction der Diphtheriebacillen bei Symbiose mit Streptokokken.

Von

Dr. **Paul Hilbert**,
Privatdocenten der inneren Medicin.

In meiner Arbeit „Ueber Wesen und Bedeutung der Mischinfection bei Diphtherie und ihr Verhältniss zur Heilserumtherapie"[1] erwähnte ich, dass in Mischculturen von Diphtheriebacillen mit Streptokokken die alkalische Reaction der Bouillon früher auftritt und stärkere Grade erreicht als in Reinculturen von Diphtheriebacillen, und sprach, gestützt namentlich auf die Untersuchungen von Cobbett die Vermuthung aus, dass dementsprechend auch die Giftbildung in den Mischculturen eine intensivere sei. Genauere Untersuchungen, welche ich im Wintersemester 1897/98 im hiesigen hygienischen Institute ausführte und deren Resultate ich in einem auf dem diesjährigen Congress für innere Medicin zu Wiesbaden gehaltenen Vortrage[2] kurz citirte, haben diese Voraussetzung bestätigt. Es sei mir gestattet, dieselben hier ausführlicher mitzutheilen.

Zuvor ist es jedoch erforderlich, die wichtigsten in der Litteratur niedergelegten Angaben über die Bedingungen, von welchen die Toxinbildung der Diphtheriebacillen abhängt, zusammenzustellen.

Roux und Yersin, denen wir die Entdeckung des Diphtheriegiftes verdanken, geben in dem zweiten Memoire[3] an, dass leicht alkalische

[1] *Deutsches Archiv für klinische Medicin.* Bd. LIX.
[2] *Verhandlungen des XVI. Congresses für innere Medicin zu Wiesbaden.* 1898.
[3] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1889. Bd. III.

Nährbouillon, welche mit Diphtheriebacillen geimpft ist, in den ersten Tagen sauer wird und dass die alkalische Reaction erst nach längerer Zeit wiederkehrt. So lange die Culturen sauer sind, ist ihr Giftgehalt gering, es müssen sehr grosse Mengen der durch Thonzellen filtrirten Flüssigkeit injicirt werden, um eine acute Diphtherievergiftung zu bewirken. Mit dem Erscheinen der alkalischen Reaction wächst derselbe rasch, nach 30 tägigem bezw. 42 tägigem Wachsthum tödtete die subcutane Einspritzung von $^1/_8$ bezw. $^1/_5$ ccm der filtrirten Cultur Meerschweinchen in ca. 30 Stunden. In dem dritten Memoire[1] findet sich die Angabe, dass die alkalische Reaction nach 15 Tagen und die Bildung nennenswerther Giftmengen nicht vor 20 Tagen unter gewöhnlichen Verhältnissen auftritt, während Culturen, über welche ständig Luft geleitet wird, nach 36 Stunden sauer und vom vierten Tage ab bereits wieder alkalisch werden.

Spronck[2] unterscheidet drei Typen in der Entwickelung der Diphtheriebacillen in Bouillon. Typus A: Die Reaction der Bouillon wird rasch sauer und bleibt es andauernd. Die durch Chamberland'sche Kerzen filtrirte Cultur zeigt keine nennenswerthe Toxicität. Typus B: Die Reaction bleibt alkalisch, der Grad der Alkalescenz nimmt nach einiger Zeit allmählich zu. Nach drei Wochen tödten $^1/_{10}$ ccm der von Bakterien befreiten Bouillon Meerschweinchen von 500 grm Gewicht in 48 Stunden. Typus C: Die Reaction wird zunächst sauer, nach einigen Tagen nimmt die Acidität merklich ab, die Cultur wird wieder alkalisch; nach drei Wochen ist die alkalische Reaction deutlich ausgesprochen, der Giftgehalt jedoch noch gering; erst nach Ablauf von 1 bis 2 Monaten tödtet Injection von $^2/_{10}$ bis $^3/_{10}$ ccm der von Bakterien befreiten Cultur Meerschweinchen von 500 grm unter acuten Vergiftungssymptomen.

Die Ursache für die genannten Verschiedenheiten erblickt Spronck in der Beschaffenheit des zur Bereitung der Bouillon benutzten Fleisches und zwar in seinem Gehalt an Zucker (Glucose). Ganz frisches Fleisch enthält viel Zucker, altes, bei welchem der Eintritt der Zersetzung sich bereits durch den Geruch bemerkbar macht, nur Spuren davon. Bouillon, hergestellt von dem ersteren, liefert den Typus A, von dem letzteren den Typus B, in der Mitte steht der Typus C. Durch Zusatz von Zucker zu Bouillon vom Typus B in gewissem Verhältniss vermochte er willkürlich den Typus C und A zu erzeugen.

Zu den gleichen Resultaten wie Spronck ist van Turenhout[3] gelangt.

[1] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1890. Bd. IV.

[2] *Ebenda.* 1895. Bd. IX.

[3] Citirt nach Madsen: Zur Biologie des Diphtheriebacillus. *Diese Zeitschrift.* 1897. Bd. XXVI.



Eine Steigerung der Giftproduction der Diphtheriebacillen erzielte Aronson[1] durch Oberflächenimpfung derselben, v. Dungern[2] durch Zusatz menschlicher Ascitesflüssigkeit zur Nährbouillon.

Kossel[3] fand, dass bei Schaffung günstiger Bedingungen, Berücksichtigung des Alters des Fleisches und Oberflächenimpfung, die Bildung von Diphtheriegift bereits 20 Stunden nach der Aussaat beginnt, nach 5 Tagen ihr Maximum erreicht, um vom 10. Tage an wieder abzunehmen.

Park und Williams[4] erhielten bemerkenswerthe Mengen Toxin bereits nach 4 Stunden, sehr grosse nach 24 Stunden, der Höhepunkt der Toxinbildung war nach 4 bis 7 Tagen erreicht, nach kurzer Zeit verminderte dieselbe sich rasch wieder.

Cobbett[4] constatirte bei Züchtung der Diphtheriebacillen unter günstigen Bedingungen (kein Zuckergehalt der Bouillon, keine Erschütterung der Cultur [Smith]) ebenfalls bereits nach 3 Tagen Giftproduction und sieht es demnach für bewiesen an, dass Diphtheriebacillen in den ersten Tagen toxisch werden können und am Ende der ersten oder zu Beginn der zweiten Woche das Maximum der Toxinbildung erreichen. Unter weniger günstigen Verhältnissen, bei starkem Zuckergehalt der Bouillon und häufiger Bewegung der Cultur, tritt die Giftbildung später auf.

Cobbett hat ferner den Beziehungen der Alkalescenz zur Giftbildung besondere Aufmerksamkeit geschenkt. In den ersten neun Tagen verlaufen beide einander parallel, der Art, dass der Grad der Alkalescenz fast als Maassstab für die Menge des producirten Giftes dienen kann; später, gegen die Mitte der zweiten Woche, nahm mitunter die Giftbildung ab, während der Alkaligehalt noch anstieg, bald jedoch verringete auch der letztere sich deutlich.

Th. Smith[5] hält die Entfernung der Muskelglycose aus dem Fleisch durch Fäulniss für das sicherste Mittel, um in gewöhnlicher Fleischbrühe ein möglichst starkes Diphtherietoxin zu erhalten. Nach Schierbeck[6] ist die alkalische Reaction der gebräuchlichen Nährböden ungünstiger für Wachsthum und Toxinentwickelung der Diphtheriebacillen als eine schwach

---

[1] *Berliner klinische Wochenschrift.* 1894.

[2] *Centralblatt für Bakteriologie.* 1896. Bd. XIX.

[3] *Ebenda.* 1896. Bd. XIX.

[4] Citirt nach Cobbett: Contribution à l'étude de la physiologie du bacille diphthèrique. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1897. Bd. XI.

[5] Conditions influencing the appearence of toxin in cultures of the bacillus of Diphtheria. *Medical record.* 1896. — Referat in *Centralblatt für Bakteriologie.* 1896. Bd. XX.

[6] Ueber den Einfluss der Kohlensäure auf Wachsthum und Toxinbildung der Diphtheriebacillen. *Archiv für Hygiene.* 1896. Bd. XXVII.



saure. Durch Ueberleiten von Kohlensäure über die Culturen vermochte er die Giftbildung wesentlich zu beschleunigen.

Blumenthal[1] verhinderte die Giftbildung der Diphtheriebacillen in Peptonbouillon durch Zusatz von 1 Procent und darüber Trauben- oder Milchzucker. Die Ursache dafür liegt seiner Ansicht nach darin, dass der Diphtheriebacillus durch den Zuckerzusatz auf den Kohlehydratstoffwechsel beschränkt wird, welcher ohne Toxinentwickelung abläuft.

Sehr eingehende Untersuchungen zur Biologie des Diphtheriebacillus verdanken wir Madsen.[2] Dieser Forscher unterscheidet zwei Typen derselben, 1. solche, welche auf dem sauren Stadium bleiben, und 2. solche, welche nach vorangegangener Säuerung das alkalische erreichen. Die ersteren entsprechen dem Typus A. Spronck's, die letzteren dem Typus C. Culturen vom Typus B, welche keine Spur von Abnahme der Alkalescenz darboten, sind ihm nicht begegnet und hebt er meines Erachtens mit vollstem Rechte hervor, dass geringfügige Veränderungen der Reaction ohne Titrirung nicht mit Sicherheit erkannt werden können. In den sauer bleibenden Culturen war keine nennenswerthe Giftproduction nachzuweisen. Der Grund hierfür liegt nicht darin, dass „der Bouillon die nöthigen Stoffe fehlen, sondern weil die lebhafte Säureproduction das weitere Wachsthum der Bacillen verhindert". „Der Zeitpunkt, wo die Toxicität in den alkalischen Culturen erscheint, variirt überaus bedeutend, von einigen Tagen bis halbe Jahre nach der Aussaat." „Die Bildung von Alkali und von Toxin müssen als mit einander parallel laufend betrachtet werden und ihr Verhältniss kann möglicher Weise so formulirt werden, dass es eine nothwendige Bedingung für eine kräftige Toxinbildung ist, dass die Bouillon alkalisch wird, da das Wachsthum im entgegengesetzten Falle sehr gering und das Toxin in saurer Flüssigkeit destruirt wird; dagegen ist es nicht nöthig, dass selbst ein sehr starker Alkalescenzgrad ein Zeichen ist, dass die Cultur eine grosse Menge Toxin enthält, obwohl diese beiden Eigenschaften häufig einander begleiten."

Bei den Untersuchungen, welche die Ursache für das verschiedene Verhalten der Giftproduction aufzuklären bezweckten, gelangte er zu dem Resultate, dass die Ueberleitung von Luft, welche von französischen Autoren empfohlen und geübt wird, keinen begünstigenden Einfluss ausübt, ebenso wenig ein solcher bei Verwendung alten Fleisches zur Bereitung der Bouillon mit Regelmässigkeit zu bemerken ist, ferner, dass Zusatz von kohlensaurem Kalk wohl die Culturen alkalisch macht, jedoch nicht die

[1] Ueber die Möglichkeit der Bildung von Diphtherietoxin aus Eiweisskörpern und auf Zucker enthaltenden Nährböden. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1897.

[2] *Diese Zeitschrift.* 1897. Bd. XXVI.



Menge des gebildeten Toxins vermehrt, dass dagegen die hauptsächlichste Bedeutung für das Endergebniss dem Alkalescenzgrad der verwendeten Bouillon zukommt.

Zum Schlusse möchte ich noch folgende Sätze aus Madsen's Arbeit wörtlich citiren, da sie für die Beurtheilung der nachfolgenden eigenen Untersuchungen von Bedeutung sind. Madsen macht ausdrücklich darauf aufmerksam, „welche ausserordentlich grossen Schwierigkeiten man findet und wie viel Rücksichten man nehmen muss, wenn man den Einfluss verschiedener Bedingungen auf die Giftbildung von Diphtheriebacillen in Bouillon untersuchen will. Versuche dieser Art haben nur Beweiskraft, wenn sie beim Vergleich mit Culturen, die ganz gleich sind bis auf die zu untersuchende Beziehung, controlirt werden; besonders die Bouillon muss ganz genau dieselbe sein, und selbst in diesem Fall muss man nur mit Vorbehalt einen deutlichen Ausschlag auffassen."

Wenn wir das Facit aus den vorstehend citirten Litteraturangaben ziehen, so ergiebt sich, dass die Giftproduction der Diphtheriebacillen in Bouillonculturen ausserordentlichen Schwankungen unterworfen ist; meist tritt sie nach Verlauf von 1 bis 3 Wochen auf, gelegentlich aber bereits am ersten Tage, mitunter erst nach einem halben Jahre, ja unter Umständen kann sie ganz ausbleiben. Diese Differenzen treten nicht nur bei Diphtheriebacillen verschiedener Abstammung hervor, auch ein und derselbe Bacillus kann die weitgehendsten Verschiedenheiten in dieser Beziehung darbieten. Die Ursache hierfür ist hauptsächlich in der Beschaffenheit des Nährbodens zu suchen. Reichlicher Gehalt an Zucker scheint der Giftproduction ungünstig zu sein, starke Alkalescenz dieselbe zu begünstigen. Auch die Art der Cultivirung ist nicht ohne Einfluss, da bei Oberflächenimpfung raschere Toxinentwickelung gefunden ist. Dagegen ist der Nutzen der Luftüberleitung zum mindesten bestritten.

Um nun bei den von mir zur Beantwortung der Frage, ob durch Symbiose mit Streptokokken die Giftproduction der Diphtheriebacillen gesteigert wird, unternommenen Untersuchungen keinen Täuschungen unterworfen zu sein, war es erforderlich, den erwähnten Erfahrungen nach Möglichkeit Rechnung zu tragen. Ich habe deshalb die zu Vergleichen herangezogenen Versuche, welche, wenn irgend angängig, mehrfach wiederholt wurden, stets mit Bouillon von derselben Provenienz angestellt. Diese wurde in der im hiesigen Institut üblichen Weise aus Rindfleisch bereitet, wie es der Fleischer zum Verkauf ausbietet, welches also einerseits nicht zu frisch war, andererseits keine Spuren von Zersetzung zeigte. Die Reaction wurde verschieden eingestellt, meist durch Zusatz von Sodalösung deutlich alkalisch gemacht; bei einigen Versuchen wurde zu diesem Zwecke



Normalkalilauge gewählt; in den bezüglichen Protocollen ist die Anzahl der zu einem Liter Bouillon zugefügten Cubikcentimeter Normalkalilauge (NK.) ausdrücklich angegeben, um Nachprüfungen zu ermöglichen.

Behufs genauer Beobachtung der Veränderungen der Reaction erwies sich der Zusatz von aus der Apotheke bezogener Lackmustinctur zur Bouillon am praktischsten. Sowohl Diphtheriebacillen, wie auch Streptokokken wachsen in der Lackmusbouillon sehr gut. Es können ferner durch Vergleich mit ungeimpften Controlröhrchen von demselben Durchmesser selbst geringe Abweichungen von der ursprünglichen Farbe erkannt und ihr Maass durch Titrirung bestimmt werden. Dies ist bei mit Phenolphtaleïn versetzter Bouillon nicht der Fall. Ausserdem wurde bei einigen Culturen in letzterer das Wachsthum der Diphtheriebacillen aufgehalten, während die Streptokokken sich gut entwickelten, so dass ich auch aus diesem Grunde von der Fortsetzung der Versuche mit Phenolphtaleïnbouillon Abstand nahm.

In den Kreis meiner Untersuchungen wurden 5 verschiedene Diphtheriebacillen und 6 Streptokokken gezogen. Die Diphtheriebacillen stammten von den im hygienischen Institute eingelieferten Proben diphtherieverdächtigen Mandelbelages, sie zeigten alle charakteristischen mikroskopischen und culturellen Merkmale, bei der Mehrzahl war auch die Virulenz durch den Thierversuch festgestellt. Sie sind in den nachfolgenden Protocollen durch Hinzufügen der Nummern der eingelieferten Proben von einander unterschieden, z. B. Diphth. 1700. Die Streptokokken gehörten sämmtlich zu der als Streptococcus longus bezeichneten Art. Drei davon entnahm ich aus der Sammlung des Institutes (Streptoc. Institut 1 bis 3); dieselben waren aus Eiter gewonnen, genauer konnte jedoch ihr Ursprung nicht mehr festgestellt werden; drei züchtete ich gelegentlich anderer Untersuchungen von gesunden Mandeln verschiedener Personen, sie sind durch Beifügen der betreffenden Namen gekennzeichnet.

Die Anlegung der Misch- und Vergleichsculturen geschah von 24 stündigen Bouillonculturen der Bakterien und gelangten dabei stets die gleichen Mengen beider zur Verwendung. Die Reinheit derselben wurde in bestimmten Zwischenräumen durch Anfertigung von Deckglaspräparaten und Ausstreichen auf Glycerinagar bezw. Serumröhrchen geprüft und jeder Versuch, bei welchem sich eine Verunreinigung eingeschlichen hatte, was besonders bei den Titrirungen häufiger passirte, sofort ausgeschaltet.

Der besseren Uebersicht wegen habe ich die Auszüge aus den Protocollen in 3 Gruppen gesondert, welche ich nach einander besprechen werde. I. Reagensglasversuche, II. Titrirungen, III. Thierversuche. Bei den Reagensglasversuchen sind lediglich die Farbenver-



änderungen der Lackmusbouillon unter dem Einfluss der Diphtheriebacillen, der Streptokokken und beider zusammen notirt; bei den Titrirungen versuchte ich einen möglichst genauen Maassstab für die Säure- bezw. Alkalibildung zu gewinnen; durch die Thierversuche endlich sollte der Beweis geliefert werden, dass das in den Mischculturen entstandene Gift thatsächlich mit dem Diphtherietoxin identisch ist.

Ich lasse zunächst die Protocolle über die Reagensglasversuche folgen:

I. Reagensglasversuche.

1. Stark alkalische Bouillon wird mit Lackmustinctur versetzt, bis deutliche Färbung auftritt. Im Reagensglase erscheint die Farbe nach dem Sterilisiren fast rein blau.

8.X. 1897. Es wird je ein Reagensglas geimpft mit a) Diphth. (1700); b) Diphth. (1700) u. Streptoc. (Institut 1); c) Streptoc. (Institut 1); d) bleibt zur Controle ungeimpft.

Sämmtliche werden im Brütschrank bei 37° aufbewahrt.

9.X. a) Diphth. rothviolett; b) Diphth. u. Streptoc. etwas intensiver rothviolett als a; c) Streptoc. rothviolett = a.

11.X. a) Diphth. röthlichblau; b) Diphth. u. Streptoc. beim Herausnehmen aus dem Brütschrank blass, fast farblos, fleischwasserähnlich, nach mehrmaligem Umschütteln röthlichblau; c) Streptoc. röthlich.

12.X. a) Diphth. bläulich; b) Diphth. u. Streptoc. deutlicher blau als a; c) Streptoc. rein röthlich.

16.X. a) Diphth. blau; b) Diphth. u. Streptoc. intensiver blau als a; c) Streptoc. roth.

Dieser Farbenunterschied zwischen Diphth. und Diphth. u. Streptoc. bleibt bei der bis zum 28.I. 1898 fortgesetzten Beobachtung constant.

2. Zu 50 ccm schwach alkalischer Bouillon werden 20 Tropfen Lackmustinctur gefügt. Die Farbe der Bouillonröhrchen nach dem Sterilisiren ist blauviolett.

16.X. 1897. Es wird je ein Reagensgläschen geimpft mit: a) Diphth. (1700); b) Diphth. (1700) u. Streptoc. (Institut 1); c) Streptoc. (Institut 1); d) bleibt zur Controle ungeimpft.

18.X. a) Diphth. und b) Diphth. u. Streptoc. beim Herausnehmen aus dem Brütschrank fast völlig farblos, nach mehrmaligem Umschütteln schwach röthlich; c) Streptoc. röthlich.

20.X. a) Diphth. blass hellblau; b) Diphth. u. Streptoc. Anfangs farblos, später blass bläulich mit röthlichem Schimmer; c) Streptoc. roth.

22.X. a) Diphth. blau; b) Diphth. u. Streptoc. in den oberen zwei Dritteln des Gläschens blau, unten farblos; c) Streptoc. roth.

23.X. a) Diphth. blau; b) Diphth. u. Streptoc. intensiver blau als a; c) Streptoc. roth.

29.X. a) Diphth. grünlichblau; b) Diphth. u. Streptoc. reinblau; c) Streptoc. roth.



Dieser Farbenunterschied bleibt bei der bis zum 28. I. 1898 fortgesetzten Beobachtung unverändert erhalten.

3. Zu diesem Versuche wird Bouillon derselben Provenienz und Bereitung und dieselben Bakterien benutzt wie zu Versuch 2.

23. X. 1897. Es wird je ein Reagensgläschen geimpft mit: a) Diphth. (1700); b) Diphth. (1700) u. Streptoc. (Institut 1).

25. X. Bei Herausnahme aus dem Brütschrank erscheinen beide farblos, nach Umschütteln nehmen sie röthlichen Farbenton an, Diphth. erscheint dabei etwas dunkler als Diphth. u. Streptoc.

26. X. Beide zunächst farblos, färben sich nach Umschütteln, wobei Diphth. einen mehr violetten, Diphth. u. Streptoc. einen mehr röthlichen Farbenton annimmt.

28. X. Bei Herausnahme aus dem Brütschrank sind beide fast farblos, nach Umschütteln färben sie sich bläulich, Diphth. etwas mehr als Diphth. u. Streptoc.

2. XI. Beide gleichmässig blau gefärbt.

5. XI. Diphth. u. Streptoc. intensiver blau als Diphth.

Dieser Farbenunterschied bleibt bei der bis zum 28. I. 1898 fortgesetzten Beobachtung unverändert.

4. Dieselbe Lackmusbouillon wie in Versuch 2 und 3.

2. XI. 1897. Es wird je ein Reagensgläschen geimpft mit: a) Diphth. (1763); b) Diphth. (1763) u. Streptoc. (David); c) Streptoc. (David); d) ein Controlröhrchen bleibt ungeimpft.

3. XI. a) Diphth. und b) Diphth. u. Streptoc. fast völlig entfärbt; c) Streptoc. geröthet.

4. XI. a) Diphth. fast farblos mit röthlichem Schimmer, welcher nach Umschütteln deutlicher hervortritt; b) Diphth. u. Streptoc. ganz entfärbt, etwas gelblich; c) Streptoc. blass röthlich.

5. XI. a) Diphth., b) Diphth. u. Streptoc., c) Streptoc. sämmtlich gleichmässig entfärbt, gelblich.

12. XI. a, b, c gleichmässig blau, ohne Unterschied.

NB. Die zu diesem Versuche benutzten Streptokokken stammten von den gesunden Tonsillen eines 33 jährigen, an Gastritis leidenden Mannes, bildeten zum Theil lange Ketten und verhielten sich auch bei einer Controlimpfung auf Lackmusbouillon in Bezug auf die Farbenveränderungen ebenso wie hier. Es sind dies die einzigen von allen durch mich untersuchten Streptokokken, welche nicht eine andauernde Säuerung der Bouillon bewirkten.

5. Dieselbe Lackmusbouillon wie in den Versuchen 2, 3, 4.

20. XI. 1897. Es wird je ein Reagensgläschen geimpft mit: a) Diphth. (1763); b) Diphth. (1763) u. Streptoc. (Morgenstern); c) Streptoc. (Morgenstern); d) ein Controlröhrchen bleibt ungeimpft.

22. XI. a, b, c gleichmässig rein roth gefärbt.

25. XI. a, b, c hell roth, ohne Unterschied.

4. XII. a, b, c gleichmässig hellroth.

Die gleichmässig rothe Färbung aller drei Culturen bleibt bei der bis zum 28. I. 1898 fortgesetzten Beobachtung unverändert.

6. 11. XII. 1897. Es wird je ein Lackmusbouillongläschen geimpft mit: a) Diphth. (1847); b) Diphth. (1847) u. Streptoc. (Institut 1); c) Streptoc. (Institut 1).

13. XII. a) Diphth. blass; b) Diphth. u. Streptoc. blassröthlich; c) Streptoc. roth.

11. I. 1898. a) Diphth. bläulich mit schwach violettem Schimmer; b) Diphth. u. Streptoc. intensiver bläulich mit schwach violettem Schimmer; c) Streptoc. roth.

28. I. Diphth. u. Streptoc. noch immer deutlich stärker blau gefärbt als Diphth. allein.

7. 3. II. 1898. Es wird je ein Lackmusbouillonröhrchen geimpft mit: a) Diphth. (1903); b) Diphth. (1903) u. Streptoc. (Groeger); c) Streptoc. (Groeger); d) ein Controlröhrchen bleibt ungeimpft.

4. II. a) Diphth. und b) Diphth. u. Streptoc. schwach gerötet, gleiche Farbe; c) Streptoc. intensiver geröthet.

5. II. Diphth. u. Streptoc. heller roth als Diphth.

7. II. a) Diphth. geröthet; b) Diphth. u. Streptoc. fast farblos, röthet sich nach Umschütteln wieder etwas, bleibt aber heller roth als a.

8. II. a) und b) werden dunkler, zeigen Uebergang in bläulichen Farbenton an.

10. II. a) Diphth. violett, wie Controlröhrchen; b) Diphth. u. Streptoc. blau; c) Streptoc. roth.

17. II. a) Diphth. blauviolett; b) Diphth. u. Streptoc. rein blau; c) Streptoc. roth.

24. II. Färbung unverändert geblieben wie am 17. II.

8. Die zu diesem Versuch benutzte Bouillon war in folgender Weise hergestellt: Ein Liter Bouillon aus Rindfleisch wurde durch Zusatz von 5 ccm Normalkalilauge schwach alkalisch gemacht und mit 30 ccm Lackmustinctur versetzt. Beim Sterilisiren bildet sich mehrfach blauer, krümliger, am Boden der Gefässe haftender Niederschlag, welcher abfiltrirt wird. Die Farbe der fertigen Bouillon ist in grossen Kolben dunkel kirschroth, im Reagensgläschen hellrosa, rothes Lackmuspapier wird spurweise gebläut, blaues nicht verändert.

19. II. 1898. Es wird je ein Reagensgläschen geimpft mit: a) Diphth. (1903); b) Diphth. (1903) u. Streptoc. (Institut 2); c) Diphth. (1903) u. Streptoc. (Groeger); d) Streptoc. (Institut 2); e) Streptoc. (Groeger); f) ein Controlröhrchen bleibt ungeimpft.

21. II. a, b, c, d, e gleichmässig roth.

28. II. a, c, d, e roth; b) Diphth. u. Streptoc. (Institut 2) bläulich.

7. III. a, c, d, e roth; b) Diphth. u. Streptoc. (Institut 2) blau.

10. III. a, d, e roth; b) Diphth. u. Streptoc. (Institut 2) blass blaugrau; c) Diphth. u. Streptoc. (Groeger) entfärbt mit Stich in's Blaue.



6. IV. a) Diphth. intensiv roth; b) Diphth. u. Streptoc. (Institut 2) dunkel blauviolett; c) Diphth. u. Streptoc. (Groeger) dunkel blauviolett; d) Streptoc. (Institut 2) intensiv roth; e) Streptoc. (Groeger) intensiv roth.

Bei diesen 8 Versuchen gelangten 4 verschiedene Diphtheriebacillen und 5 Streptokokken zur Verwendung.

Sämmtliche Streptokokken bewirkten eine intensive Säuerung der Bouillon, welche mit Ausnahme von Versuch 4 bei allen unverändert bis zum Schluss der Beobachtung anhielt. Bei Versuch 4 (Streptoc. David) war die Bouillon nach voraufgegangener Säuerung in 10 Tagen alkalisch geworden. Es ist dies das einzige Mal unter sehr zahlreichen Untersuchungen, dass ich Alkalibildung bei Streptokokken beobachtet habe. Auch in der Litteratur wird, soweit mir bekannt, den Streptokokken die Fähigkeit, Säure zu produciren, zugesprochen, nur in einer Arbeit von Petruschky[1] sind sie als Alkalibildner aufgeführt.

Von den Diphtherieculturen verharrten zwei auf dem sauren Stadium (Versuch 5, Diphth. 1763 und Versuch 8, Diphth. 1903), entsprechend dem Typus A Spronck's, alle anderen erreichten das alkalische. In den beiden Fällen trat die Säurebildung sehr rasch auf und erreichte hohe Grade, so dass wahrscheinlich durch das Uebermaass derselben die Diphtheriebacillen in ihrer weiteren Entwickelung gehemmt wurden. In Versuch 5 ist der Grund für dies Verhalten um so weniger ersichtlich, als dieselben Diphtheriebacillen, auf Bouillon der gleichen Herkunft gezüchtet, in Versuch 4 nach 10 Tagen deutlich Alkali gebildet hatten. Bei Versuch 8 mag die Ursache in der schwachen Alkalescenz der benutzten Bouillon (5 ccm Normalkalilauge auf einen Liter) zu suchen sein, da dieselben Diphtheriebacillen in Versuch 7 die stärker alkalische Flüssigkeit nach anfänglicher Säuerung alkalisch machten.

Die Diphtherieculturen in Versuch 1, 2, 3, 4, 6, 7 entsprechen dem Typus C Spronck's. Von ihnen nahmen 1 und 7 ohne Uebergang eine röthliche Färbung an, zeigten also eine deutliche Säureproduction, bei 2, 3, 4, 6 war in den ersten Tagen eine Entfärbung der Lackmusbouillon zu bemerken, welche besonders deutlich hervortrat, wenn die Culturen längere Zeit unberührt im Brütschrank gestanden hatten. Am 2. bis 4. Tage sahen sie mitunter fleischwasserähnlich oder auch ganz farblos aus. Wurden solche Culturen gut durchgeschüttelt, so nahmen sie in den ersten Tagen einen röthlichen, in späterer Zeit einen mehr bläulichen Farbenton an. Zu der Zeit, wenn die Alkalibildung deutlicher wurde,

[1] Die Farbenreaction bakterieller Stoffwechselproducte auf Lackmus als Beitrag zur Charakteristik und als Mittel zur Unterscheidung der Bakterienarten. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1890. Bd. VII.



färbten sich bei ruhigem Stehen im Wärmeschrank oft zuerst die oberen, der Luft ausgesetzten Theile der Cultur blau, während die tieferen Schichten farblos blieben. Worauf diese eigenthümliche Erscheinung beruht, vermag ich zwar nicht mit Sicherheit anzugeben, halte es aber für wahrscheinlich, dass hier neben der Säurebildung eine Reductionswirkung aufgetreten ist, welche den Farbstoff zerstört, beim Schütteln der Cultur mit Luft aber durch den Sauerstoff derselben wieder aufgehoben wird.

Die alkalische Reaction der Diphtherieculturen war zwischen dem 4. und 30. Tage deutlich ausgesprochen.

Von den Mischculturen hielt nur eine (Versuch 5, Diphth. 1763 u. Streptoc. Morgenstern) auf dem Stadium der Säurebildung an. In diesem Falle waren auch die Reinculturen der Diphtheriebacillen nicht alkalisch geworden. Bei Versuch 8, bei welchem die Diphtheriecultur (Diphth. 1903) ebenfalls sauer blieb, trat in der Mischcultur mit Streptoc. (Institut 2) die Alkalibildung am 9., in der mit Streptoc. Groeger am 19. Tage auf.

Fast bei allen Mischculturen war in den ersten Tagen theils neben der Säurebildung, theils dieselbe verdeckend, eine Entfärbung der Lackmusbouillon (Reduction?) zu constatiren, welche intensiver war als die der Reinculturen.

Die Blaufärbung war nur bei Versuch 4 die gleiche in der Mischcultur wie in der Reincultur, bei allen anderen Versuchen war sie in der Mischcultur deutlich intensiver und trat mehrere Tage früher auf.

Damit ist der Beweis geliefert, dass bei Symbiose von Diphtheriebacillen mit Streptokokken in Bouillon die Alkalescenz in der Regel rascher eintritt und höhere Grade erreicht als in Reinculturen von Diphtheriebacillen.

Immerhin blieb es wünschenswerth, einen genaueren, zahlenmässigen Ausdruck für die Grösse der Säure- und Alkalibildung in den zu vergleichenden Culturen zu gewinnen. Zu diesem Zwecke habe ich der Nährbouillon bestimmte, bei den einzelnen Versuchen variirte Mengen Normalkalilauge und Lackmustinctur zugesetzt, habe sodann grössere Quantitäten davon in Erlenmeyer'schen Kölbchen mit den betreffenden Bakterien geimpft und in gewissen Zwischenräumen je 10 ^{ccm} abgenommen, in Reagensgläschen von gleichem Dickendurchmesser gefüllt und tropfenweise aus Büretten soviel $^1/_{10}$ Normalkalilauge oder $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure zugefügt, bis annähernd die gleiche Farbe mit der ursprünglichen, nicht geimpften Lackmusbouillon, welche selbstverständlich ebenfalls in Reagensgläschen von demselben Durchmesser enthalten war, erreicht wurde. Die Anzahl der verbrauchten Cubikcentimeter $^1/_{10}$ Normallauge oder $^1/_{10}$

Normalsäure liefert zwar keine absoluten Werthe für die Grösse der Säure- oder Alkalibildung, immerhin war es auf diese Weise möglich, den Gang der Reactionsänderung in befriedigender Weise objectiv auszudrücken und zu vergleichen. Störend bei der Ausführung der Titrirungen war die mehr oder weniger ausgesprochene Trübung der Culturflüssigkeit durch das Wachsthum der Bakterien. Anfangs versuchte ich dieselben mittels Filtrirens durch Chamberland'sche oder Reichel'sche Thonfilter zu beseitigen, gab dies jedoch bald auf, weil dadurch, besonders bei Benutzung ungebrauchter Kerzen, die Farbe wesentlich verändert wurde, und filtrirte später die Culturen durch dichtes Filtrirpapier so lange, bis sie einigermaassen klar und für die Ausführung der Titrirung geeignet erschienen.

Im Folgenden sei ein kurzer Auszug aus den Versuchsprotocollen abgedruckt:

II. Titrirungen.

9. 28. I. 1898. Je ein mit Lackmusbouillon (Farbe zwiebelroth) gefülltes Erlenmeyer'sches Kölbchen von ca. 100 ccm Inhalt wird geimpft mit: a) Diphth. (1903); b) Diphth. (1903) u. Streptoc. (Institut 2).

29. I. a) Diphth. hellroth. 10·0 ccm verbrauchten 0·33 ccm $^1/_{10}$ NK. (Normalkalilauge) bis zur Erreichung der annähernd gleichen Farbe wie das Controlröhrchen; b) Diphth. u. Streptoc. etwas heller roth als a. 10 ccm verbrauchten 0.33 ccm $^1/_{10}$ NK.

31. I. a) Diphth. röthlich. 10 ccm verbrauchen 0·5 ccm $^1/_{10}$ NK.; b) Diphth. u. Streptoc. heller, fast entfärbt. 10 ccm verbrauchen 0·5 ccm $^1/_{10}$ NK.

3. II. a) Diphth. roth. 10 ccm verbrauchen 0·3 ccm $^1/_{10}$ NK.; b) Diphth. u. Streptoc. hat etwas bläulichen Farbenton. 10 ccm verbrauchen 1·1 ccm $^1/_{10}$ *NS.* (Normalschwefelsäure).

5. II. a) Diphth. schwach blau. 10 ccm verbrauchen 0·5 ccm $^1/_{10}$ N.S. b) Diphth. u. Streptoc. intensiv blau. 10 ccm verbrauchen 1·8 ccm $^1/_{10}$ N.S.

10. 15. II. 1898. Drei Erlenmeyer'sche Kölbchen, mit je 300 ccm der bei Versuch 8 beschriebenen Lackmusbouillon gefüllt, werden geimpft mit: a) Diphth. (1903); b) Diphth. (1903) u. Streptoc. (Institut 2); c) Diphth. (1903) u. Streptoc. (Groeger).

16. II. Alle drei Kolben geröthet. a) 10 ccm Diphth. verbrauchen 0·75 ccm $^1/_{10}$ NK.; b) 10 ccm Diphth. u. Streptoc. (Institut 2) verbrauchen 0·95 ccm $^1/_{10}$ NK.; c) 10 ccm Diphth. u. Streptoc. (Groeger) verbrauchen 1·0 ccm $^1/_{10}$ NK.

17. II. a) 10 ccm Diphth. verbrauchen 0·8 ccm $^1/_{10}$ NK.; b) 10 ccm Diphth. u. Streptoc. (Institut) verbrauchen 1·0 ccm $^1/_{10}$ NK.

18. II. Der mit Diphtherie allein geimpfte Kolben a erweist sich als durch andere Mikroorganismen verunreinigt, muss daher vernichtet werden.

24. II. b) Diphth. u. Streptoc. (Institut 2) blauröthlich; c) Diphth. u. Streptoc. (Groeger) hellroth.

Die mikroskopische Prüfung von Ausstrichpräparaten ergiebt für b das Vorhandensein reichlicher Diphtheriebacillen und Streptokokken, für c nur

Streptokokken. Um zu prüfen, ob in letzteren keine entwickelungsfähigen Diphtheriebacillen mehr enthalten sind, wird eine Oese davon auf Löffler'schem Blutserum verstrichen. 25. II. reichlich Diphtheriebacillen gewachsen.

26. II. d) Als Ersatz für die verdorbene Diphtherieculter a) wird ein frischer, mit ca. 300 ^{ccm} derselben Bouillon gefüllter Kolben mit Diphth. (1903) geimpft.

1. III. d) Diphth. (vom 26. II.) hellroth.

10. III. b) Diphth. u. Streptoc. (Institut 2) blauviolett; c) Diphth. u. Streptoc. (Groeger) roth; d) Diphth. (vom 26. II.) roth.

18. III. Die Färbung ist dieselbe geblieben.

22. III. b) 10 ^{ccm} Diphth. u. Streptoc. (Institut 2) verbrauchen 1·1 ^{ccm} $^1/_{10}$ N.S.; d) 10 ^{ccm} Diphth. (vom 26. II.) verbrauchen 1·7 ^{ccm} $^1/_{10}$ NK.

1. IV. d) Diphth. (vom 26. II.) hat bläuliche Farbe angenommen. Die bakteriologische Untersuchung ergiebt Verunreinigung mit Kokken.

7. IV. b) Diphth. u. Streptoc. (Institut) blauviolett, 10 ^{ccm} verbrauchen 2·4 ^{ccm} $^1/_{10}$ NS.; c) Diphth. u. Streptoc. (Groeger) roth, 10 ^{ccm} verbrauchen 2·4 ^{ccm} $^1/_{10}$ NK.; d) Diphth. (vom 26. II.) verunreinigt! blaugrünlich, 10 ^{ccm} verbrauchen 2·2 ^{ccm} $^1/_{10}$ NS.

5. V. b) Diphth. u. Streptoc. (Institut) blauröthlich; c) Diphth. u. Streptoc. (Groeger) blauröthlich, dunkler als b.

Die mikroskopische und culturelle Prüfung ergiebt bei c nur Diphtheriebacillen und Streptokokken.

11. Bei Bereitung der zu diesem Versuche benutzten Bouillon waren zu 1 Liter Bouillon 15 ^{ccm} Normalkalilauge und 40 ^{ccm} Lackmustinctur hinzugefügt. Beim Sterilisiren bildeten sich mehrfach blaugefärbte Niederschläge, welche abfiltrirt wurden. Farbe der zum Gebrauch fertigen Nährflüssigkeit im Kolben dunkel-blauroth.

28. II. 1898. Es wird je ein Kolben mit 300 ^{ccm} Bouillon geimpft mit: a) Diphth. (1903); b) Diphth. (1903) u. Streptoc. (Institut 2).

4. III.	a)	10 ^{ccm}	Diphth. verbrauchen	0·8	^{ccm} $^1/_{10}$	NK.
	b)	10 „	Diphth. u. Streptoc. verbr.	1·3	„ „	NK.
7. III.	a)	10 „	Diphth. verbrauchen	0·8	„ „	NK.
	b)	10 „	Diphth. u. Streptoc. verbr.	0·2	„ „	NS.
9. III.	a)	10 „	Diphth. verbrauchen	0·65	„ „	NK.
	b)	10 „	Diphth. u. Streptoc. verbr.	0·4	„ „	NS.
10. III.	a)	10 „	Diphth. verbrauchen	0·5	„ „	NK.
	b)	10 „	Diphth. u. Streptoc. verbr.	0·6	„ „	NS.
15. III.	a)	10 „	Diphth. verbrauchen	0·5	„ „	NK.
	b)	10 „	Diphth. u. Streptoc. verbr.	0·8	„ „	NS.
18. III.	a)	10 „	Diphth. verbrauchen	0·3	„ „	NK.
	b)	10 „	Diphth. u. Streptoc. verbr.	1·0	„ „	NS.
26. III.	a)	10 „	Diphth. verbrauchen	0·95	„ „	NS.
	b)	10 „	Diphth. u. Streptoc. verbr.	1·5	„ „	NS.

Ein am 28. II. 1898 gleichzeitig mit obigen mit Diphtheriebacillen von Fall 1903 und Streptokokken von Fall Groeger geimpfter Kolben derselben



Bouillon machte dieselben Farbenveränderungen durch wie a, es bildete sich also in ihm nicht früher Alkali als in dem nur mit Diphtheriebacillen beschickten.

12. Zu diesem Versuche wurde dieselbe Lackmusbouillon benutzt wie zu Versuch 11.

9. III. 1898. Es wird je ein **Erlenmeyer**'sches Kölbchen mit ca. 100 ccm Lackmusbouillon-Inhalt geimpft mit: a) Diphth. (1929); b) Diphth. (1929) u. Streptoc. (**Groeger**).

11. III. Beide roth.

16. III. a) Diphth. roth; b) Diphth. u. Streptoc. unten entfärbt, fleischwasserähnlich, oben bläulich.

22. III.	10 ccm	Diphth. verbrauchen	0·6 ccm	$^1/_{10}$	NK.
	10 „	Diphth. u. Streptoc. verbr.	0·4 „	„	NK.
26. III.	10 „	Diphth. verbrauchen	0·2 „	„	NK.
	10 „	Diphth. u. Streptoc. verbr.	0·5 „	„	NS.
2. IV.	10 „	Diphth. verbrauchen	0·8 „	„	NS.
	10 „	Diphth. u. Streptoc. verbr.	1·1 „	„	NS.

Zu diesen Versuchen waren zwei Diphtheriebacillen und zwei Streptokokken verwandt.

Wir begegnen auch hier wiederum denselben Farbenveränderungen der Lackmusbouillon, welche oben beschrieben sind. Wir constatiren des Weiteren in Uebereinstimmung mit unseren obigen Beobachtungen und den Erfahrungen **Madsen**'s, dass derselbe Diphtheriebacillus (1903) in der schwach alkalischen Bouillon gezüchtet auf dem Stadium der Säurebildung verharrt (Versuch 10), wohl in Folge excessiver Bildung derselben, während er auf stärker alkalischer zum alkalischen Stadium gelangt (Versuch 11); ferner, dass die stark saure Reaction einer Diphtheriecultur durch eine Verunreinigung mit Kokken plötzlich in das Alkalische umschlägt, worauf **Madsen** bereits ebenfalls aufmerksam gemacht hat.

Versuch 10 lehrt in Uebereinstimmung mit dem oben besprochenen Versuch 8, dass verschiedene Arten von Streptokokken in durchaus verschiedener Weise die Alkaliproduction der Diphtherieculturen beeinflussen. Während in dem Kolben, welcher mit Diphth. und Streptoc. (Institut 2) geimpft war, die alkalische Reaction bereits am 9. Tage bemerkbar war, trat sie bei der Association von Diphth. mit Streptoc. Groeger erst nach $1^1/_2$ Monaten auf, nachdem ein Stadium sehr starker Säurebildung vorangegangen war, während dessen augenscheinlich die Entwickelung der Diphtheriebacillen geschlummert hatte.

Die Versuche 9, 11, 12 liefern den sicheren Beweis, dass in den Mischculturen die Alkalibildung früher auftritt und höhere Grade erreicht als in den Reinculturen. Bei Versuch 9 ist die Mischcultur am 6. Tage

alkalisch, die Reincultur am 8., bei Versuch 11 die Mischcultur am 7., die Reincultur am 26., bei Versuch 12 die Mischcultur am 27., die Reincultur am 34.

War somit durch die angeführten Untersuchungen die von mir aufgestellte Behauptung, dass Diphtheriebacillen und Streptokokken bei gemeinsamem Wachsthum die Reaction der Nährbouillon früher und stärker alkalisch machen, als zu Recht bestehend erwiesen, so erübrigte noch der Nachweis, dass auch thatsächlich in den Mischculturen eine grössere Menge Diphtherietoxin gebildet wird als in Reinculturen. Zwar liessen die vorhin citirten Angaben von Cobbett und von Madsen über den Parallelismus zwischen Alkalescenz und Giftproduction diese Annahme a priori als gerechtfertigt erscheinen, aber immerhin war doch die Möglichkeit vorhanden, dass vielleicht andere Stoffwechselproducte in den Mischculturen entstehen, welche die Veränderung der Reaction bedingen.

Der Nachweis des Diphtheriegiftes ist dadurch erschwert, dass wir von seiner chemischen Beschaffenheit absolut nichts wissen. Wir können es daher nur durch seine biologischen Eigenschaften erkennen, durch seine specifische Giftwirkung auf den Organismus der Thiere, besonders der Meerschweinchen, sowie ferner dadurch, dass das im Diphtherieheilserum enthaltene specifische Antitoxin im Stande ist, diese Giftwirkung zu paralysiren.

Es war somit meine Aufgabe, festzustellen, ob in den von Bakterien befreiten Mischculturen ein Giftstoff sich feststellen lässt, welcher die für das Diphtherietoxin charakteristischen Eigenschaften besitzt.

Zu diesem Zwecke wurden Proben der Rein- und Mischculturen zu verschiedenen Perioden ihrer Entwickelung durch Chamberland'sche oder Reichel'sche Thonkerzen filtrirt, die Filtrate behufs Vermeidung nachträglicher Zersetzung oder Zerstörung des in ihm enthaltenen Toxins im Eisschrank im Dunklen aufbewahrt und, nachdem die Keimfreiheit derselben durch Ausstrich auf Glycerinagar und mehrtägige Beobachtung der im Brütschrank aufbewahrten Röhrchen festgestellt war, Thierversuche an Meerschweinchen angestellt, aus deren Protocollen ich einen kurzen Auszug folgen lasse:

III. Thierversuche.

13. Vergl. Versuch 9. Am 28. I. 1898 war je ein Kölbchen Lackmusbouillon mit Diphth. (1903) und mit Diphth. (1903) u. Streptoc. (Institut 2) geimpft. Am 5. II. war in beiden bereits Alkali gebildet; Diphth. erforderte 0.5 ccm $^1/_{10}$ NS, Diphth. u. Streptoc. 1·8 ccm $^1/_{10}$ NS bei der Titrirung, um annähernd die gleiche Farbe wie das Controlröhrchen



zu erlangen. Es wurden deshalb am 5. II. Proben von beiden durch Chamberland'sche Thonfilter filtrirt und nach Prüfung auf Keimfreiheit folgende Thierversuche angestellt:

a) 5. II. Junges Meerschweinchen I, erhält 0·5 ccm Diphtheriefiltrat subcutan am Abdomen.

6. II. Anscheinend ganz gesund und munter.

7. II. Morgens todt gefunden. Section: Injection und Exsudat an Impfstelle; beträchtliche Exsudate in Bauch- und Brusthöhle; Nebennieren stark injicirt, blauroth, nicht vergrössert.

b) 5. II. Junges Meerschweinchen II, von gleichem Gewicht wie I, erhält 0·5 ccm Diphtherie- u. Streptokokkenfiltrat subcutan.

6. II. Morgens todt gefunden. Section: Injection an Impfstelle; beträchtliche seröse Exsudate in Bauch- und Brusthöhle, Nebennieren stark geröthet, nicht vergrössert.

14. Vergl. Versuch 10. Von der am 15. II. mit Diphth. (1903) u. Streptoc. (Institut 2) geimpften Lackmusbouillon wird am 3. III., nachdem Alkalibildung constatirt war, ein Theil durch Thonfilter filtrirt und nach Prüfung auf Keimfreiheit folgende Versuche angestellt:

a) 4. III. Meerschweinchen I, Gewicht ca. 500 grm, erhält 0·5 ccm Diphtherie- u. Streptokokkenfiltrat subcutan am Abdomen.

5. III. Morgens todt gefunden. Section: An Impfstelle keine nennenswerthe Injection; in der Abdominalhöhle kein deutliches Exsudat; Nebennieren wenig geröthet; beiderseits bedeutende Pleuraexsudate, untere Partieen beider Lungen ödematös.

b) 4. III. Meerschweinchen II, Gewicht ca. 500 grm, erhält 0·5 ccm Diphtherie- u. Streptokokkenfiltrat und 0·1 ccm Diphtherieheilserum (100 fach) subcutan an getrennten Stellen der Bauchwand.

Bis zum 10. III. vollkommen gesund, alsdann beginnt allmählich Abmagerung, verbunden mit Anschwellung einiger Lymphdrüsen am Abdomen. Tod am 23. III. Section deckt als Todesursache ausgebreitete Tuberculose der Lunge, Leber, Milz u. s. w. auf.

15. Vergl. Versuch 10. 10 ccm der zu Versuch 14 benutzten Diphtherie- u. Streptokokkencultur erforderten am 22. III. 1·1 ccm $^1/_{10}$ NS. Es wird ein Theil davon durch Reichel'sche Porzellanfilter filtrirt und damit nach Prüfung auf Keimfreiheit folgende Versuche (zur Ergänzung von Versuch 14) angestellt.

a) 24. III. Meerschweinchen I, Gewicht 160 grm, erhält 0·2 ccm Diphtherie- u. Streptokokkenfiltrat subcutan.

25. III. Morgens todt aufgefunden. Section: Geringe Röthung der Nebennieren, mässige Pleuraexsudate. Von Impfstelle auf Blutserum und Glycerinagar angelegte Culturen blieben steril.

b) 24. III. Meerschweinchen II, Gewicht 140 grm, erhält 0·2 ccm Diphtherie- u. Streptokokkenfiltrat und 0·2 ccm Heilserum (100 fach) subcutan.



25. III. Gesund, kein Infiltrat an Impfstelle.
6. IV. Immer gesund geblieben. Gewicht 190 grm.

16. Vergl. Versuch 10. Die am 26. II. mit Diphtheriebacillen allein geimpfte Lackmusbouillon war am 22. III. noch intensiv sauer; ihre Farbe war roth, 10 ccm erforderten bei der Titrirung 1·7 ccm $^1/_{10}$ NK. Um zu prüfen, ob in dieser bereits eine Bildung von Diphtheriegift in nennenswerthen Mengen aufgetreten sei, wurde eine Probe davon am 22. III. durch Reichel'sches Porzellanfilter filtrirt und nach Feststellung der Keimfreiheit folgender Versuch angestellt:

24. III. Meerschweinchen, Gewicht 120 grm, erhält 0.2 ccm Diphtheriefiltrat.
25. III. Gesund, kein Infiltrat.
6. IV. Gesund geblieben. Gewicht 155 grm.

17. Vergl. Versuch 11. Von am 28. II. mit Diphth. (1903) bezw. Diphth. (1903) u. Streptoc. (Institut 2) geimpften Kölbchen mit Lackmusbouillon waren am 7. III. der erstere sauer, der letztere schwach alkalisch. 10 ccm Diphth. erforderten 0·8 ccm $^1/_{10}$ NK., 10 ccm Diphth. u. Streptoc. 0·2 ccm $^1/_{10}$ NS. bei der Titrirung. Es wurden deshalb am 7. III. von beiden Proben durch Chamberland'sche Kerzen filtrirt und nach Feststellung der Keimfreiheit folgende Versuche angestellt.

a) 9. III. Meerschweinchen I, Gewicht 620 grm, erhält 0·5 ccm Diphtheriefiltrat subcutan.
10. III. Leichte Verdickung an Impfstelle, sonst munter.
11. III. Gewicht 580 grm; anscheinend munter, Infiltrat mässig stark.
12. III. An dem Infiltrat beginnen die Haare auszufallen.
15. III. Gewicht 610 grm; kleiner Schorf an Impfstelle, munter.
21. III. Gewicht 600 grm; fünfpfennigstückgrosser Schorf an Impfstelle.
25. III. Der Schorf stösst sich ab.
6. IV. Haarlose, verdickte Narbe an Impfstelle, Gewicht 630 grm, gesund.
b) 9. III. Meerschweinchen II, Gewicht 650 grm, erhält 0·5 ccm Diphtherie- u. Streptokokkenfiltrat subcutan.
10. III. Starke Infiltration an Impfstelle, sonst munter.
11. III. Macht kranken Eindruck, sehr dickes Infiltrat, lähmungsartige Schwäche der Hinterbeine, Gewicht 600 grm.
12. III. Morgens todt. Section: An Impfstelle beträchtliches Oedem mit Gefässinjection und sulzigem Exsudat; Nebennieren etwas vergrössert, mässig blutreich; beträchtliche seröse Pleuraexsudate. In den von der Impfstelle angelegten Culturen wurden weder Diphtheriebacillen, noch Streptokokken gefunden.

18. Von denselben, zu Versuch 17 benutzten Culturen verbrauchten bei der am 10. III. ausgeführten Titrirung 10 ccm Diphth. 0·5 ccm $^1/_{10}$ NK., 10 ccm Diphth. u. Streptoc. 0·6 ccm $^1/_{10}$ NS. Es wurden am 10. III. von



beiden Proben durch Thonfilter filtrirt und nach Prüfung auf Keimfreiheit folgende Versuche ausgeführt:

a) 11. III. Meerschweinchen, Gewicht 150 ^{grm}, erhält 0·15 ^{ccm} Diphtheriefiltrat.

12. III. Munter, geringes Infiltrat.

18. III. Gewicht 158 ^{grm}; kleines Infiltrat.

21. III. Gewicht 180 ^{grm}; zehnpfennigstückgrosser Schorf an Impfstelle, munter.

25. III. Schorf beginnt sich abzustossen.

6. IV. Narbe an Impfstelle, gesund, Gewicht 250 ^{grm}.

Die von der am 10. III. durch Thonfilter filtrirten Bouillon auf Glycerinagar angelegte Cultur war am 11. III., zur Zeit der Anstellung obigen Versuches, vollkommen steril, am 12. III., nach weiteren 24 Stunden, zeigten sich auf derselben vereinzelte Diphtheriecolonieen. Es musste deshalb der Zweifel entstehen, ob nicht vielleicht die bei dem Versuch beobachtete geringe Localaffection auf Verimpfung vereinzelter lebender Bacillen zurückzuführen sei. Es wurde, um diesem Einwand zu begegnen, daher das Filtrat vom 10. III. am 12. III. nochmals durch Porzellan filtrirt, und, nachdem durch dreitägige Beobachtung der angelegten Culturen die Keimfreiheit mit absoluter Sicherheit festgestellt war, der Versuch am 15. III. wiederholt.

b) 15. III. Meerschweinchen, Gewicht 148 ^{grm}, erhält 0·15 Diphtheriefiltrat.

21. III. Gewicht 140 ^{grm}, munter, fünfpfennigstückgrosses Infiltrat an Impfstelle, auf welchem die Haare ausfallen.

25. III. Munter, Nekrose an Impfstelle.

6. IV. Gewicht 180 ^{grm}, haarlose Narbe an Impfstelle, gesund.

c) 11. III. Meerschweinchen, Gewicht 250 ^{grm}, erhält 0·25 ^{ccm} Diphtherie- u. Streptokokkenfiltrat subcutan.

12. III. Morgens todt. Section: Geringe Injection an Impfstelle; Nebennieren nicht geröthet, beträchtliche seröse Pleuraexsudate. Von Impfstelle angelegte Culturen blieben steril.

19. Dieselben, zu Versuch 17 und 18 benutzten Culturen waren am 26. III. beide alkalisch geworden. Bei der an diesem Tage ausgeführten Titrirung verbrauchten 10 ^{ccm} Diphth. 0·95 $^{1}/_{10}$ NS., 10 ^{ccm} Diphth. u. Streptoc. 1.5 ^{ccm} $^{1}/_{10}$ NS. Es wurden am 26. III. Proben von beiden durch Chamberland filtrirt, und, nachdem sie sich während fünftägiger Beobachtung als keimfrei erwiesen hatten, am 1. IV. zu folgenden Versuchen benutzt:

a) 1. IV. Meerschweinchen, Gewicht 140 ^{grm}, erhält 0·05 ^{ccm} Diphtheriefiltrat subcutan.

2. IV. Macht einen etwas leidenden Eindruck.

3. IV. Morgens todt gefunden. Section: Injection und Oedem an Impfstelle; Nebennieren etwas geröthet; Pleuraexsudate.

Von Impfstelle konnten Diphtheriebacillen nicht gezüchtet werden.

b) 1. IV. Meerschweinchen, Gewicht 180 ^{grm}, erhält 0·05 ^{ccm} Diphtherie- u. Streptokokkenfiltrat subcutan.



2. IV. Macht einen etwas leidenden Eindruck.

3. IV. Morgens todt gefunden. Section: Injection und Oedem an Impfstelle in mässiger Ausdehnung, Nebennieren wenig geröthet, Pleuraexsudate.

Von Impfstelle angelegte Culturen blieben steril.

20. Am 9. V. 1898 werden drei Kolben mit Bouillon (ohne Lackmuszusatz, schwach alkalisch, ca. 100 ccm) geimpft mit: a) Diphth. 1903); b) Diphth. (1903) u. Streptoc. (Institut 3); c) Streptoc. (Institut 3) und darauf, mit Gummikappen verschlossen, in den Brütschrank gesetzt, woselbst sie etwas über einen Monat unberührt stehen bleiben.

11. VI. a) Diphth. Bouillon oben klar, unten flockiger Bodensatz, sich etwas an den Wänden des Glases in die Höhe ziehend. Mikroskopisch nur Diphtheriebacillen. b) Diphth. u. Streptoc. Bouillon klar, am Boden krümliger Bodensatz, auf der Oberfläche ein mässig festes, weisses Häutchen. Mikroskopisch besteht der Bodensatz aus Diphtheriebacillen und Streptokokken, das Häutchen an der Oberfläche nur aus Diphtheriebacillen. c) Streptoc. Bouillon klar, am Boden wolkiger, schleimiger, fadenziehender Satz, in welchem mikroskopisch nur Streptokokken gefunden werden.

Von allen drei Kolben werden Proben durch je ein Chamberland'sches Thonfilter filtrirt und nachdem die Keimfreiheit durch mehrtägige Beobachtung der mit den Filtraten angelegten und im Brütschrank aufbewahrten Culturen erwiesen, die folgenden Versuche angestellt.

Das Diphtheriefiltrat verändert die Farbe von rothem und blauem Lackmuspapier nicht, das Diphtherie- u. Streptokokkenfiltrat färbt rothes deutlich blau, das Streptokokkenfiltrat blaues schwach roth.

a) 13. VI. Meerschweinchen, Gewicht 310 grm, erhält 0·1 ccm Diphtheriefiltrat subcutan.

14. VI. Gesund, kein Infiltrat.

16. VI. Gewicht 350 grm, gesund, kein Infiltrat.

21. VI. Gewicht 360 grm, gesund, kein Infiltrat.

b) 13. VI. Meerschweinchen, Gewicht 330 grm, erhält 0·1 ccm Diphtherie- u. Streptokokkenfiltrat subcutan.

14. VI. Kleines Infiltrat an Impfstelle, sonst munter.

16. VI. Gewicht 310 grm. Infiltrat hat Markstückgrösse angenommen, sonst anscheinend munter.

20. VI. Infiltrat beginnt sich als Schorf von circa Markstückgrösse zu demarkiren.

21. VI. Gewicht 320 grm, munter, Schorf beginnt sich abzustossen.

Ist gesund geblieben.

c) 16. VI. Meerschweinchen, Gewicht 448 grm, erhält 0·5 ccm Streptokokkenfiltrat subcutan.

20. VI. Gesund, kein Infiltrat.

21. VI. Gewicht 450 grm, kein Infiltrat, gesund.

Versuch 16 bestätigt zunächst die schon erwähnte Thatsache, dass in Diphtherieculturen, welche auf dem Stadium der Säurebildung blieben, Giftstoffe in den gewöhnlich zur Injection benutzten Dosen nicht nachweisbar sind.



Versuch 13 lehrt, dass das Filtrat der gleichaltrigen Mischcultur Meerschweinchen schneller tödtet, als das der in gleicher Menge eingespritzten Reincultur, in ersterer also ein kräftigeres Toxin enthalten ist, als in letzterer. Die Section der Thiere hatte in beiden Fällen übereinstimmende Ergebnisse, sie bot das typische Bild der durch subcutane Injection erzeugten experimentellen Diphtherie. Wenn somit schon aus diesem Grunde die Wahrscheinlichkeit sehr gross war, dass der in der Mischcultur enthaltene Giftstoff mit dem Diphtherietoxin identisch ist, so wurde dieselbe zur Gewissheit erhoben durch die Resultate der Versuche 14 und 15. Bei denselben erhielt je ein Meerschweinchen ein bestimmtes Quantum von dem Filtrat einer Mischcultur, das andere ausser derselben Dosis gleichzeitig 0·1 bezw. 0.2 ccm Heilserum (100fach); die ersteren starben an typischer Diphtherie, die letzteren blieben gesund.

Die Versuche 17, 18, 19, welche mit Proben derselben Rein- und Mischcultur in verschiedenen Stadien der Entwickelung angestellt sind, gewähren einen genaueren Einblick in den Gang der Alkali- und Giftbildung in diesen. Nr. 17 ist am 7. Tage nach der Impfung ausgeführt, als die Diphtheriecultur noch ziemlich stark sauer reagirte, während bei Diphth. u. Streptoc. bereits ein geringer Grad von Alkalescenz zu constatiren war. Das mit Diphtheriefiltrat geimpfte Thier erlitt ein kleines Infiltrat an der Injectionsstelle, blieb aber leben, das mit Diphth. u. Streptoc. geimpfte Meerschweinchen starb am 3. Tage unter den typischen Erscheinungen der experimentellen Diphtherie. Am 10. Tage (Versuch Nr. 18) war Diphth. noch sauer, aber bereits in geringerem Grade, Diphth. u. Streptoc. war stärker alkalisch geworden. Das Diphth.-Thier bekam wiederum nur ein Infiltrat, das Diphth. u. Streptoc.-Thier starb bereits einen Tag nach der Injection. Nach 26 Tagen (Versuch Nr. 19) waren beide Culturen stark alkalisch, Diphth. u. Streptoc. in stärkerem Grade als Diphth.; die mit den Filtraten dieses Termins geimpften Meerschweinchen gingen trotz der geringen zur Einspritzung verwandten Mengen (0·05 ccm) beide nahezu gleichzeitig an typischer Diphtherieintoxication zu Grunde.

Zu Versuch 20 war schwach alkalische Bouillon ohne Lackmuszusatz verwandt. Hier konnte nach einem Monat in der Diphtheriecultur Toxin in den kleinen zur Einspritzung gelangenden Dosen (0·1 ccm) nicht nachgewiesen werden; die Injection derselben Menge Diphtherie u. Streptokokkenfiltrat erzeugte locale Nekrose, dasselbe enthielt mithin Gift, wenn auch nur in geringer Quantität.

Der Einwand, dass der Tod der Versuchsthiere etwa durch von den Streptokokken in der Bouillon gebildete Giftstoffe bedingt oder beschleunigt sei, ist an und für sich in Anbetracht der Sectionsbefunde unwahrschein-



lich, wird aber durch den Versuch 20c. direct widerlegt. Ein Meerschweinchen, welches mit einem verhältnissmässig grossen Quantum (0·5 ccm) keimfreien Filtrates einer über einen Monat alten Streptokokkencultur geimpft war, blieb gesund.

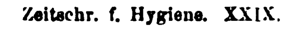
Durch die Ergebnisse meiner Thierexperimente werden die Angaben v. Schreider's[1] bestätigt und ergänzt. v. Schreider fällte aus den durch Chamberland'sche Kerzen filtrirten und im Vacuumapparat eingeengten Culturen die Gifte durch Alkohol in Form sogenannter Toxalbumosen aus und fand, dass die Injection der aus Milchculturen gewonnenen Toxalbumosen Meerschweinchen und Kaninchen erheblich schneller tödtet, als die aus Reinculturen dargestellten.

Die mitgetheilten Untersuchungen haben bestätigt, dass die Bildung von Alkali und von Toxin in Diphtherieculturen einander parallel verlaufen, dass das zeitliche Auftreten derselben aber im einzelnen Falle ausserordentlichen Schwankungen unterworfen ist, sie haben ferner gezeigt, dass auch in Mischculturen von Diphtheriebacillen mit Streptokokken dieselben Schwankungen, bald frühes, bald relativ spätes Erscheinen der alkalischen Reaction und der Giftproduction anzutreffen sind. Als Regel aber ergiebt sich aus denselben, dass bei unter den gleichen Bedingungen angelegten Reinculturen von Diphtheriebacillen und Mischculturen von Diphtherie und Streptokokken in letzteren die Alkalescenz und die Toxinentwickelung früher, ja zum Theil sehr viel früher auftritt und höhere Grade erreicht als in ersteren, und dass in manchen Fällen, in welchen die Diphtheriebacillen allein auf dem sauren, giftfreien Stadium stehen geblieben wären, die Association mit Streptokokken sie in das alkalische Stadium und zur Giftbildung hinüberleitet.[2]

Die Art und Abstammung der Streptokokken hat hierauf zweifellos auch einen gewissen Einfluss, wenigstens trat, wie die Versuche 8 und 10 lehren, der geschilderte Vorgang bei Verwendung eines aus Eiter gezüchteten Streptococcus früher auf als bei Benutzung eines aus einer gesunden Mundhöhle gewonnenen. Auf welchen Eigenschaften der Streptokokken dies beruht, geht aus meinen Versuchen nicht hervor; die verwandten Streptokokken zeigten sämmtlich die Eigenthümlichkeiten des

[1] Ueber Mischculturen von Streptokokken und Diphtheriebacillen. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1892. Bd. XII.

[2] Gelegentlich der Discussion zu meinem Vortrage auf dem diesjährigen Congress für innere Medicin, in welchem ich die Resultate dieser Arbeit erwähnte, bestätigte Hr. F. Blumenthal auf Grund nicht veröffentlichter Untersuchungen A. Blumenthal's die Steigerung der Giftproduction der Diphtheriebacillen unter der Einwirkung der Streptokokken.





Streptococcus longus und boten kulturell keine bemerkenswerthen Unterschiede.

Zum Schluss drängt sich uns die Frage auf, worauf es beruht, dass die Diphtheriebacillen bei Symbiose mit den Streptokokken früher und stärker Gift bilden als ohne dieselben?

Zur Erklärung dieser Thatsache können drei Möglichkeiten in Betracht gezogen werden:

1. die Diphtheriebacillen wachsen üppiger bei Association mit Streptokokken,
2. durch die Streptokokken wird in der Culturflüssigkeit eine Veränderung bewirkt, welche der Toxinerzeugung durch die Diphtheriebacillen günstig ist,
3. die Virulenz der Diphtheriebacillen wird durch die Symbiose erhöht.

Was den ersten Punkt betrifft, so habe ich auf Grund meiner in der oben citirten Arbeit niedergelegten Untersuchungen angenommen, dass die Diphtheriebacillen in Gesellschaft von Streptokokken üppiger wachsen als in Controlculturen. Zahlenmässige Beweise habe ich allerdings nicht beigebracht, auch dürften solche wohl schwer zu erbringen sein; ich stützte mich lediglich auf die Beobachtung von Deckglaspräparaten, wobei ja Irrthümer nicht ausgeschlossen sind. Bernheim[1] scheint in seiner neuesten Arbeit ebenfalls geneigt, das raschere Wachsthum der Diphtheriebacillen gelten zu lassen. v. Dungern[2] dagegen widerspricht dem. In seinen Versuchen wuchsen die Diphtheriebacillen nur ebenso stark wie ohne Streptokokken. Die Annahme eines üppigeren Wachsthums ist also nicht unbestritten. Aber wenn wir auch, wie ich glaube mit Recht, an derselben festhalten, so folgt daraus nicht mit Nothwendigkeit, dass die stärker wachsenden Bacillen auch mehr Gift produciren. Die Untersuchungen von Blumenthal[3] zeigen sogar, dass trotzdem unter gewissen Bedingungen die Giftbildung ganz ausbleiben kann. Es ist deshalb wohl nicht gestattet, diesen Punkt ausschliesslich zur Erklärung heranzuziehen.

Auf die zweite Möglichkeit hat Smith[4] hingewiesen und ist dazu zu bemerken, dass, wie Bernheim und ich nachgewiesen haben, die Diphtheriebacillen in Filtraten von Streptokokkenculturen meist üppiger

[1] Ueber die Immunisirung von Versuchsthieren gegen die Mischinfection mit Diphtheriebacillen u. Streptokokken. *Archiv f. Hygiene.* 1898. Bd. XXXIII. Hft. 1 und 2.

[2] Die Bedeutung der Mischinfection bei Diphtherie. Ziegler's *Beiträge.* 1896. Bd. XXI.

[3] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1897.

[4] Referat in *Centralblatt für Bakteriologie.* 1896. Bd. XX.



gedeihen als in Controlröhrchen. Allerdings waren die Filtrate von älteren, längere Zeit gewachsenen Streptokokkencolonieen gewonnen und fehlt somit der Beweis, dass auch in ganz frischen Streptokokkenculturen derartige, das Wachsthum der Diphtheriebacillen begünstigende Veränderungen der Bouillon zu Stande kommen. Die einzige uns bekannte Aenderung, welche in Streptokokkenculturen sehr rasch aufzutreten pflegt, ist die Säuerung der Bouillon. Aus den Untersuchungen Madsen's, sowie meinen eigenen, geht aber hervor, dass eine zu sehr nach dem Saueren hinneigende Reaction des Nährbodens der Toxinentwickelung schädlich ist. Mithin ist es nicht wahrscheinlich, dass in der Veränderung des Nährbodens die Anregung der Diphtheriebacillen zu rascherer Giftbildung zu suchen ist.

Es bleibt somit die dritte Möglichkeit übrig, dass die Virulenz der Diphtheriebacillen durch die Association mit Streptokokken erhöht wird. Diese Hypothese ist zuerst von Roux und Yersin ausgesprochen. Schwach virulente Diphtheriebacillen wurden von diesen Autoren durch gemeinsame Verimpfung mit Erysipelkokken in stark virulente verwandelt und behielten bei Weiterimpfung die neu erworbene Virulenz bei. Funck und ich haben sich dieser Anschauung auf Grund eigener Versuche angeschlossen, dagegen hat zunächst Escherich[1] eingewandt, dass die Vermehrung der Virulenz bei den Experimenten von Roux und Yersin lediglich die Folge der Passage durch den Thierkörper sein könne, und hat der Vermuthung Raum gegeben, dass die Widerstandskraft des Organismus durch die gleichzeitig injicirten Streptokokken herabgesetzt werde. Bernheim und v. Dungern suchten der Ansicht von Escherich eine experimentelle Stütze zu verleihen.

Bernheim[2] fand bei Züchtung von Diphtheriebacillen auf festen „Streptokokkennährböden“ keine stärkere Zunahme der Virulenz als in Controlculturen. v. Dungern verwandte flüssige Medien (Ascitesbouillon), auf welchen Streptokokken längere Zeit gewachsen waren, nach keimfreiem Filtriren zur Cultur von Diphtheriebacillen und konnte auch hier keine Virulenzsteigerung gegenüber Controlversuchen wahrnehmen. Auf Grund der negativen Ergebnisse schliessen sie, dass nur die Abnahme der Widerstandskraft des Organismus die Ursache der stärkeren Wirkung von Mischculturen sein kann, ohne allerdings einen positiven Beweis für dieselbe zu erbringen.

Meine soeben ausführlich geschilderten Untersuchungen liefern nun den Beweis, dass in Mischculturen thatsächlich die Giftbildung früher

[1] *Aetiologie und Pathogenese der epidemischen Diphtherie I.* Wien 1894.

[2] Ueber die Rolle der Streptokokken bei der experimentellen Mischinfection mit Diphtheriebacillen. *Archiv für Hygiene.* 1897. Bd. XXVIII.



auftritt und stärkere Grade erreicht als in Reinculturen, und zwar nicht die Bildung eines „Mischtoxins", wie Bernheim sich in seiner neuesten Arbeit ausdrückt, sondern eines mit allen bisher bekannten Zeichen des Diphtherietoxins übereinstimmenden Giftes. Hier ist also mit den Diphtheriebacillen ausserhalb des Körpers, ohne Mitwirkung desselben, eine Veränderung vorgegangen, welche sie zu stärkerer Giftbildung befähigt. Eine solche dürfte aber kaum anders, denn als Steigerung der Virulenz derselben zu bezeichnen sein.

Im Uebrigen möchte ich nicht unterlassen, ausdrücklich darauf hinzuweisen, dass für die Praxis die Entscheidung dieses Streites doch nicht die Bedeutung hat, welche ihr von einigen Seiten beigelegt wird. Die Widerstandskraft der einzelnen Organismen, sowie die Virulenz der sie angreifenden Bakterien sind ja ausserordentlich variable, gar nicht näher zu bestimmende Grössen. Im gegebenen Falle ist es daher irrelevant, ob die Infectionskraft der inficirenden Mikroorganismen durch Abnahme der Widerstandsfähigkeit des Körpers oder durch Steigerung ihrer eigenen Virulenz oder, was wahrscheinlich meistens zutreffen wird, durch Zusammenwirken beider Umstände zunimmt; von Bedeutung ist nur, dass sie thatsächlich vermehrt ist. Hiermit haben wir zu rechnen, hiergegen anzukämpfen. Um bei dem Beispiel der Diphtherie zu bleiben, werden wir gegen die, sei es relative, sei es absolute Virulenzsteigerung der Diphtheriebacillen durch Symbiose mit Streptokokken mit grösseren Dosen Antitoxin, gegen die in meiner früheren Arbeit nachgewiesene Gefahr einer Secundärinfection mit Streptokokken in Folge Steigerung von deren Virulenz durch möglichst frühzeitige Einspritzung des Heilserum vorzugehen haben.



[Aus dem Laboratorium der Universitäts-Kinderklinik (am Charitékrankenhaus) zu Berlin.]
Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. Heubner.

Untersuchungen über 30 verschiedene Diphtheriestämme mit Rücksicht auf die Variabilität derselben.

Von

Stabsarzt Dr. **Slawyk**, Assistenten. und Dr. **Manicatide**, Volontärassistenten der Klinik.

Im December 1897 erschien nach einem auf der Versammlung der Naturforscher und Aerzte in Braunschweig gehaltenen Vortrag eine Arbeit von Dr. Zupnik,[1] durch welche die bis dahin angenommene Einheit des Diphtheriebacillus in Frage gestellt wurde. Zupnik fand, dass der Diphtheriebacillus, den er sowohl aus Reinculturen verschiedener Serumfabriken als auch direct von Kranken züchtete, auf Agar in zwei verschiedenen Formen sich entwickelt; ihnen gehen weitere wichtige biologische Differenzen parallel.

Die eine Art wächst auf Agar relativ gross, flach, matt und hat unregelmässige Contouren; sie färbt sich nach Gram, ist ohne Eigenbewegung und erweist sich für Meerschweinchen vollvirulent. Auf Bouillon bildet sie ohne Trübung Häutchen.

Die andere Art erzeugt kleinere Colonieen, welche kreisrund, halbkuppenförmig und stark glänzend sind. Die Bacillen selbst färben sich nicht nach Gram, wohl aber ihre Babes-Ernst'schen Körperchen. Sie sind langsam eigenbeweglich und rufen bei Meerschweinchen nach subcutaner Einverleibung Infiltrate und Nekrosen, jedoch niemals tödtliche

---

[1] Leo Zupnik, Ueber Variabilität der Diphtheriebacillen. Aus Prof. Hüppe's hygienischem Institut. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1897. Nr. 50.



Erkrankungen hervor. Bouillonculturen zeigen erst diffuse Trübung, später werden sie unter Bildung von Häutchen wieder klar.

Die Veröffentlichung Zupnik's, welche, wie gesagt, die Einheitlichkeit der Diphtheriebacillen in Frage stellte, war nicht nur von allgemeinem Interesse, sondern auch deshalb besonders beachtenswerth, als möglicher Weise das Ueberwiegen der einen oder der anderen Art mit der Schwere der Einzelerkrankung, eventuell auch ganzer Epidemieen in ätiologischen Zusammenhang gebracht werden konnte. Hierdurch wäre die Frage nach dem Werth des Heilserums wieder discutirbar geworden.

Es lag nahe, dass auf einer Klinik, die täglich mit Diphtheriekranken zu thun hat, der Arbeit Zupnik's ein besonderes Interesse entgegengebracht und eine Nachprüfung der angegebenen Resultate vorgenommen wurde.

Zur Untersuchung kamen folgende Culturen:

Nummer	Stammcultur			Ursprung der einzelnen Cultur	Krankengeschichte.
	angelegt auf Serum am	übertrag. auf Agar am	mithin alt in Tg.		
1	23. XII. 1897	8. III. 1898	74	schwere Diphtherie mit letal endender Pneumonie.	Lucie H., $2^1/_4$ jähr. Tischlerstochter, am 22. XII. mit starken Belägen beider Tonsillen und schwerer Kehlkopfstenose zur Klinik gebracht. 25. XII. Intubation, Bronchitis. 28. XII. Pneumonie. 3. I. Exitus.
2	25. XII.	4. III.	69	recidivirende, mittelschwere Diphtherie-cultur vom 2. Belag. Heilung.	Erna W., $7^1/_4$ jährige Lehrerstochter, am 16. XII. mit mässigen Belägen der Tonsillen aufgenommen. 1500 Immunitätseinheiten. Beläge in 3 Tagen verschwunden, kehren am 25. XII. in grosser Ausdehnung zurück. Erneute Injection, Beläge am 31. XII. wieder verschwunden. Hartnäckige Urticaria (Serum?) in der Reconvalescenz.
3	21. XII.	11. III.	80	schwere Diphtherie mit Sepsis. Heilung.	Clara L., 6 jähriges, unehel. Kind, am 9. XI. 1897 (3. Krankheitstag) mit ausgedehnten Belägen beider Tonsillen, der Gaumenbögen und des Zäpfchens aufgenommen. 3000 I.-E. 13. XI. scharlachähnliches Serumexanthem; 19. XI. Schwellung der rechtsseitigen Halsdrüsen; 28. XI. Eröffnung derselben. Im Eiter mikroskopisch und culturell nur Streptokokken. 7. XII. Spaltung eines weiteren, bis zur Clavicula reichenden rechtsseitigen Halsdrüsenabscesses, seitdem Besserung. 8. XII. bis 12. XII. Masernausschlag, darnach Befinden gut. 17. XII. plötzlicher Temperaturanstieg auf 40·9°, Wundhöhle der rechten Halsseite mit schmutzig-grauweissen, in

Nummer	Stammcultur			Ursprung der einzelnen Cultur	Krankengeschichte
	angelegt auf Serum am	übertrag. auf Agar am	mithin alt in Tg.		
					Fetzen abziehbaren Belägen besetzt; mikroskopisch und culturell fast Reincultur von Diphtheriebacillen. Ordin.: 3000 I.-E. Pinseln mit Löffler'scher Toluol-Eisenchloridlösung. Wunde reinigt sich, Fieber bleibt hoch im Blute Streptokokk. 25. XII. Empyemoperation rechts. 10. I. Spaltung eines grossen Abscesses am linken Schulterblatt. 1. II. Eröffnung eines faustgrossen Eiterherdes am linken Oberschenkel.[1] Seitdem ungestörte Reconvalescenz, 1. IV. geheilt entlassen. Cultur wurde am 21. XII. aus dem Nasensecret gewonnen, aus den Belägen der Halswunde stammt Cultur 14.
4	27. XII. 1897	9. III. 1898	72	schwere Diphtherie mit ausgedehnten consecutiven Lähmungen. Heilung.	Walther H., 12jähriger Schneiderssohn, am 23. XII. (4. Krankheitstag) mit starken Belägen, die den ganzen Rachenraum austapezieren, aufgenommen. 3000 I.-E. 3. I. leichte Herzschwäche gehoben durch Champagner und Campher. 5. I. Beläge verschwunden, 8. I. Gaumensegellähmung, 14. I. beginnende Accommodationsparese, 17. I. Ataxie und Parästhesieen in den unteren Extremitäten, 19. I. Ataxie auch in den oberen Gliedmaassen, Kribbeln im Gesicht. Sehr langsames Zurückgehen der schweren, nervösen Störungen, 28. III. geheilt entlassen.
5	2. XII.	4. III.	92	schwere Diphtherie mit tödtlicher Herzschwäche	Emma B., 7jähr. Handelsmannstochter, am 30. XI. 1897 (7. Krankheitstag) aufgenommen. Beläge über den ganzen Rachen, im Urin reichlich Eiweiss. Am 2. XII. Zeichen von Herzschwäche, die unaufhaltsam bis zum 10. XII. zum Tode führen.
6	9. XII.	9. III.	90	Diphtherie mit schwerem Scharlach combinirt. Heilung.	Wera H., 5jährige Mechanikerstochter, am 9. XII. (5. Krankheitstag) bewusstlos mit starken Belägen im Halse aufgenommen; 10. XII. typischer Scharlachausschlag. Erkrankung verläuft schwer, auf beiden Seiten des Halses müssen vereiterte Drüsen eröffnet werden. Am 22. I. geheilt entl.
7	15. XII.	12. III.	87	mittelschwere Diph. m. leicht. Herzschwäche u. Halsdrüsenvereiterung. Heilung.	Franz P., 3jähriger Arbeiterssohn, am 15. XII 1897 (2. Krankheitstag) aufgen., mit mässigen Belägen auf beiden Tonsillen. 1500 I.-E. Im Verlauf der Erkrankung leichte Herzschwäche und Halsdrüsenvereiterung. 7. II. geheilt entlassen.

[1] In den verschiedenen Eiterherden fanden sich niemals Diphtheriebacillen, sondern stets nur Streptokokken.



Nummer	Stammcultur angelegt auf Serum am	übertrag. auf Agar am	mithin alt in Tg.	Ursprung der einzelnen Cultur	Krankengeschichte.
8	8. II. 1898	8. III. 1898	28	secundäre Diphtherie n. Keuchhust. und Masern. Croup. Tod an absteigender Bronchitis.	Elisabeth W., 1½ jähriges Waisenkind, am 21. I. 1898 wegen Keuchhusten und Masern zur Klinik gebracht, am 18. Tage des Krankenhausaufenthaltes Crouphusten. Beläge auf den Tonsillen. An zutretender Lungenentzündung geht das Kind bald darauf zu Grunde.
9	3. III.	9. III.	6	leichte Diph. Heilung.	Hermann Sch., 8jähriger Waisenknabe, am 3. III. 98 ohne Anamnese m. leichten diphth. Belägen aufgenommen. Krankheit verläuft leicht, 17. III. geheilt entlassen.
10	9. III.	10. III.	—	leichte Diph. Heilung.	Frieda J., 4jährige Hausdienerstochter, am 9. III. mit mittelschweren Belägen beider Mandeln und des Zäpfchens aufgenommen, am 23. III. geheilt entlassen.
11	3. III.	4. III.	—	Angina necr. n. Scharlach. Heilung.	Margarethe Sch., 3jähr. Kellnerstochter, am 24. III. der Klinik wegen schwerer Halsentzünd. nach Scharlach überwiesen. Schwächliches, abgemagertes Kind mit starker Scharlachschuppung. Beide Tonsillen durch tiefgreifende Ulcerationsprocesse zerstört, rechts im vorderen Gaumenbogen ein fünfpfennigstückgrosses Loch, durch welches man in eine grosse, z. Th. mit schmierigen grauweissen Massen angefüllte Höhle sieht. Reichliche glasige Schleimsecretion aus den Tonsillen. Aus dem Loch im rechten Gaumenbog. stammt die Cultur.
12	[illegible]. XI. 1897	8. III.	116	secundäre larvirte Diph. mit schwerem Croup und letalem Ausgang.	Charlotte H., 3jähr. Buchdruckerstochter, am 20. X. 1898 wegen Idiotie aufgenommen. Seit 29. X. Fieber, am 10. XI. leichter Crouphusten, der bald z. schweren Stenose führt. Intubation. Exitus 11. XI. Im Rachen niemals Beläge, Cultur aus entleertem Schleim angelegt.
13	13. III. 1898	14. III.	—	mittelschwer. Larynxcroup. Heilung ohne Kunsthülfe.	Karl J., Bruder von Nr. 10, 2 Jahre alt, am 10. III. (2. Krankheitstag) mit mässigen Rachenbelägen u. Croup im zweiten Stadium aufgenom. 3000 I.-E. Schwitzen, Natr. jodat. Die stenotisch. Erscheinungen gehen zurück, am 23. III. geheilt entlassen.
14	18. XII. 1897	10. III.	82	diphtherische Beläge der Halswunde von Kind 3. Heilung.	Cultur stammt von den diphtherischen Belägen der Halswunde von Clara L. (Nr. 3). Bei der Operation (Eröffnung vereiterter Halsdrüsen) wurden im Eiter nur Streptokokken gefunden. Es ist wohl anzunehmen, dass die Wunde von aussen her (vielleicht durch hereingekommenen Speichel) inficirt worden ist



Nummer	Stammcultur			Ursprung der einzelnen Cultur	Krankengeschichte.
	angelegt auf Serum am	übertrag. auf Agar am	mithin alt in Tg.		
15	25. XII. 1897	13. III. 1898	78	leichte Diph. Heilung.	Karl L., 6jähr. Arbeiterssohn, a. 24. XII. mit leichten Belägen beider Tonsillen aufgenommen, am 31. XII. geheilt entlassen.
16	19. II. 1898	11. III.	19	leichte Diph. Heilung.	Hermann W., 4jähriger Schneiderssohn, am 18. II. (2. Krankheitstag) mit fünfpfennigstückgrossen Belägen beider Tonsillen aufgenommen, am 5. III. geheilt entl.
17	10. II.	11. III.	29	Larynxstenose im Anschluss an hartnäckige Stomatitis aphthosa nach Masern. Letal. Ausgang.	Adolph K., $1^1/_2$ jähriger Schneiderssohn, am 13. I. wegen Masern mit schwerer Katarrhalpneumonie aufgenommen. Nach Heilung derselben schwere, sehr hartnäckige Stomatitis aphthosa. 5. II. Husten, Heiserkeit, stenotische Athmung, 8. II. Intubation, 9. II. Exitus. Obd.: Thrombose im linken Ventrikel, Embolie in der rechten Art. pulmonalis. Kehlkopf katarrhalisch erkrankt, Stimmbänder stark geschwollen, Epiglottis ödematös, keine diphtherischen Auflagerungen. Stammcultur wurde am 10. II. post obductionem aus dem Larynxschleim angelegt.
18	13. III.	14. III.	—	leichte Halsentzündung.	Dienstmädchen M., 20 Jahre alt, am 11. III. mit Halsschmerzen und leichten schleierartigen Belägen beider Tonsillen erkrankt, geringes Fieber; in 3 Tagen ohne Heilserum genesen.
19	12. III.	13. III.	—	schwerer Kehlkopfcroup. Tracheotomie. † an Bronchopneumonie.	Hans S., $5^1/_2$ jähr. Criminalschutzmannssohn, am 9. III. (4. Krankheitstag) mit starken Belägen beider Tonsillen und schwerer Kehlkopfstenose aufgenommen. Intubation, später Tracheotomie. Tod an Bronchopneumonie am 12. III.
20	12. III.	13. III.	—	mittelschwer. Kehlk.-Croup, geheilt ohne operativen Eingriff.	Egon K., $4^1/_2$ jähriges uneheliches Kind, am 12. III. (6. Krankheitstag) mit mittelschwerem Larynxcroup aufgenommen, ohne operativen Eingriff bis 4. IV. geheilt.
21			—	Laborator.-Cultur.	Diphtheriecultur vom hygien. Institut zu Berlin. Herkunft unbekannt.
22	17. III.	18. III.	—	leichte Diph. Heilung.	Martha D., 7jährige Schlosserstochter, am 17. III. mit leichten Belägen beider Tonsillen aufgenommen; Heilung ungestört, Beläge nach 48 Std. verschwunden.
23	19. III.	21. III.	—	Diphtherie v. Reconvalesc. mit leichter Diphtherie, 29 Tage nach Verschwinden	Hermann Sch., 12jähriger Arbeiterssohn, am 15. II. (4. Krankheitstag) mit leichten Belägen beider Tonsillen aufgenommen, in 5 Tagen geheilt. Wegen eines chron. Ohrenleidens (nicht diphth. Natur) bleibt das Kind bis 20. III. noch in Behandlung.



Nummer	Stammcultur angelegt auf Serum am	übertrag. auf Agar am	mithin alt in Tg.	Ursprung der einzelnen Cultur	Krankengeschichte.
				der Beläge angelegt.	Stammcultur wird am 19. III. durch Abstreichen der Tonsillenoberfläche des geheilten Knaben gewonnen.
24	18. III. 1898	19. III. 1898	—	Diphth. von Reconvalesc. mit leichter Nasendiphth., 30 Tage nach der Aufnahme angelegt.	Gertrud N., $1^3/_4$ jährige Metalldruckerstochter, am 7. II. mit Schnupfen u. Kehlkopfkatarrh aufgenommen; keine Beläge im Rachen. Diphtheriebacillen erst am 3. Tag nach viermaligem vergeblichen Abimpfen gewonnen. Reconvalescenz gestört durch acute Mittelohreiterung (Kokken). Stammcultur am 18. III. wie Nr. 23 angelegt.
25	21. III.	26. III.	5	mittelschwere Diphtherie. Heilung.	Kurt K., 10 wöchiges, unehel. Kind, am 23. III. mit mittelschwerer Diphtherie aufgenommen, am 2. IV. geheilt entlassen.
26	25. III.	27. III.	—	rückfällige Diphtherie mit Scharlach complicirt. Heilung.	Oscar H., 3 jähriger Arbeiterssohn, am 16. II. mit starken Belägen beider Tonsillen und schwerer Larynxstenose aufgenommen. 2 malige Intubation erforderlich; schwere Bronchitis u. Nephritis; vom 28. II. fieberfrei. Am 24. III. erneuter Temperaturanstieg (39·2) starke Beläge auf beiden Tonsillen, 2 Tage später Scharlachausschlag. Fieber sinkt bis 2. IV. zur Norm ab, 27. IV. geheilt entlassen. Die Stammcultur wurde aus den wiederaufgetretenen Belägen angelegt.
27	28. III.	30. III.	—	secundäre Diphtherie nach Masern bei einem schwer scrophulös. Kinde. Croup. Tracheotomie. Letaler Ausgang.	Gertrud J., 2 jährige Arbeiterstochter, am 10. II. mit schwerer Scrophulose zur Klinik gebracht, am 7. III. an Masern erkrankt; im Anschluss daran 12. III. Erysipel. 21 Tage nach der letzten prophylaktischen Heilserumeinspritzung treten — am 23. III. — Zeichen von Kehlkopfcroup auf; diese machen am 24. III. die Tracheotomie nothwendig. 26. III. Exitus letalis. Obductionsbefund: Laryngitis fibrinosa, Bronchitis catarrhalis, Dilatatio cordis, Hyperplasis glandularum colli. Stammcultur wurde post mortem aus den Belägen des Kehlkopfes angelegt.
28	30. III.	3. IV.	4	leichte Diph. Heilung.	Louise H., 7 jähriges uneheliches Kind, am 29. III. mit leichten Belägen eingeliefert. Heilung.
29	30. III.	6. IV.	7	Augendiphth. nach Masern bei Kind mit Coxitis tub. Heilung.	Wally B., 2 jähr. Tischlerstochter, wird von der chirurg. Station, woselbst sie wegen tubercul. Hüftgelenksentzündung in Behandlung war, am 21. III. wegen Masern zur Isolirabtheilung verlegt. Während der Krankheit starker Schnupfen u.

Nummer	Stammcultur			Ursprung der einzelnen Cultur	Krankengeschichte.
	angelegt auf Serum am	übertrag. auf Agar am	mithin alt in Tg.		
					Enzündung der Augenbindehäute links. Im Augensecret Diphtheriebacillen, welche gezüchtet werden. Kind wird 18. IV. gebessert auf Wunsch der Eltern entlassen. Augendiphtherie geheilt.
30	29. III. 1898	30. III. 1898	—	rückfällige mittelschwere Augendiphth. (erste Erkrankung sehr schwer). Heilung.	Otto Sch., 3jähr. Arbeiterssohn, vom 1. I. bis 20. I. wegen Masern und sehr schwerer Augendiphtherie (brettharte Infiltration beider Conjunctivae) in Behandlung, geheilt entlassen. Am 29. III. mit rückfälliger, leichter Augendiphth. wieder aufgenommen, in 14 Tagen geheilt. Stammcultur stammt von den rückfälligen Belägen der Augenbindehäute.

Agarculturen.

Dieselben wurden stets auf frisch bereiteten Agarröhrchen aus den Serumstammculturen angelegt; letztere waren direct dem Organismus entnommen.

Alle 2 Tage erfolgte die Besichtigung der Culturen, wobei auf Grösse, Form (rund, eckig), Aussehen (glänzend, glanzlos, transparent, grau, grauweiss) und Höhenwachsthum (erhaben, platt) sorgfältig geachtet wurde. Jede, auch die geringste Verschiedenheit, wurde controlirt und gab eventuell Veranlassung zu isolirter Züchtung.

Im Einzelnen zeigte sich hierbei Folgendes:

Cultur I. Wachsthum ziemlich kräftig, die Colonieen erreichen in 30 Tagen einen Durchmesser von 4 mm. Die einzelnen Colonieen zeigen eckige Contouren, wie sie etwa oberflächliche Typhuscolonieen zeigen; diese Eigenthümlichkeit erweist sich nicht als constant und tritt bei den übrigen Culturen nur selten auf. Die Colonieen sind zuerst transparent, platt und glanzlos, nach einigen Tagen werden sie undurchsichtig, grauweiss, erhaben, glänzend. An dieser Veränderung nehmen alle Colonieen gleichmässig Theil, es gelingt bei wiederholten Versuchen nicht, verschiedene Arten zu isoliren, so dass die Cultur als einheitlich bezeichnet werden muss. Interessant ist die allmähliche gleichmässige Transformation der Colonieen, welche bei jeder neuen Ueberimpfung sich bisher wieder gezeigt hat.

Cultur II. Wachsthum ziemlich kräftig. Nach etwa 7 Tagen zeigen sich deutliche Unterschiede in den einzelnen Colonieen; die einen sind kleiner, erhaben, glänzend, die anderen grösser, platt, glanzlos. Beide werden als a und b isolirt weiter gezüchtet. Die Grössendifferenzen bleiben bestehen, so dass a nach 30 Tagen bis 3 mm, b bis 5 mm Durchmesser erreicht. Dagegen tritt nach kurzer Zeit eine Differenzirung in b ein: neben platten, glanzlosen Colonieen zeigen sich erhabene, glänzendere, welche den Eindruck von Verunreinigungen hervorrufen, durch das Mikroskop jedoch als unzweifelhafte Diphtheriebacillenculturen erwiesen werden. Die Zahl derselben nimmt mehr und mehr zu, nach 3 Wochen sind sämmtliche Colonieen erhaben, grauweiss geworden.

Wenn wir von der gewiss berechtigten Voraussetzung ausgehen, dass allgemein Bacillen auf einem Nährboden desto üppiger wachsen, je mehr er ihnen zusagt, so unterliegt es keinem Zweifel, dass die Cultur II Bacillen mit verschiedenen Ansprüchen an den Nährboden enthält. Den einen (a) mundet sozusagen der Agar von vornherein ganz gut, sie entfalten sich sofort üppig; die anderen (b) müssen sich an den ihnen weniger zusagenden Nährboden erst gewöhnen; sie brauchen längere Zeit, ehe sie zu kräftiger Wachsthumsentfaltung kommen, aber schliesslich erreichen sie dieselbe doch und sonach besteht zwischen den Culturen a und b kein principieller, sondern nur ein gradueller Unterschied.

Nachdem die Cultur b sich transformirt hat, behält sie ihr üppigeres Wachsthum bei; es gelingt nicht, b bei erneuten Ueberimpfungen auf Agar zu plattem, glanzlosen Wachsthum zu veranlassen, es bleibt nunmehr stets glänzend und erhaben.

Cultur III. Wachsthum kräftig, so dass die einzelnen Colonieen in 30 Tagen bis 6 mm Durchmesser erreichen. Dieselben zeigen zuerst (wie I) plattes, wenig glänzendes Aussehen, werden aber bald üppiger, grauweiss, erhaben, glänzend. Charakteristische Unterschiede zwischen den einzelnen Colonieen treten nicht zu Tage, so dass die Cultur als einheitlich bezeichnet werden muss.

Cultur IV. Wachsthum weniger kräftig, in 30 Tagen erreichen die einzelnen Colonieen bis 2 mm Durchmesser. Wie in Cultur III sind in den ersten Tagen die Colonieen transparent, platt, glanzlos und nehmen erst später üppigere Formen an. Dieser Uebergang vollzieht sich nicht an allen Colonieen gleichmässig, sondern nach und nach, so dass einige Tage lang die Cultur aus verschiedenen Arten zu bestehen scheint. Die Unterschiede verschwinden aber bald und zeigen sich bei erneutem Ueberimpfen nicht mehr. Auch diese Cultur muss als einheitlich bezeichnet werden.



Cultur V. Wachsthum ziemlich kräftig, in 30 Tagen erreichen die einzelnen Colonieen bis 3 mm Durchmesser; das Aussehen der Colonieen ist von Anfang an das gleiche, grauweiss, erhaben, glänzend.

Subcutan einem Meerschweinchen injicirt und post mortem wieder auf Agar übertragen, zeigt die Cultur dagegen zwei verschiedene Wachsthumsformen: es entwickeln sich grössere, grauweisse, erhabene, glänzende Colonieen und kleinere, transparente, glanzlose, platte Colonieen; beide zeigen zackige Contouren. Erst allmählich findet ein Uebergang beider Formen statt, der Art, dass die platten, glanzlosen Colonieen mehr und mehr üppig wachsen und schliesslich von den glänzenden Colonieen nicht mehr zu unterscheiden sind.

Die Cultur lehrt, dass der Diphtheriebacillus auf Agar ein einheitliches Wachsthum nicht hat, sondern selbst aus einer ursprünglich einheitlichen Form leicht in variable, erst langsam wieder in einander übergehende Wachsthumsformen gebracht werden kann.

Cultur VI. Wachsthum ziemlich kräftig. Das von der Serumstammcultur angelegte Agarröhrchen zeigt nach 6 Tagen zahlreiche, platte, glanzlose Colonieen von 1 mm Durchmesser; unter ihnen befindet sich eine einzige, gleich grosse, erhabene, grauweisse, glänzende Colonie. Letztere wird als a, erstere als b isolirt weiter gezüchtet. Die angegebenen charakteristischen Unterschiede bleiben dauernd bestehen, a wächst stets grauweiss, erhaben, glänzend, b grau, platt, glanzlos.

Zusatz von Blut oder sterilisirter Streptokokkenbouillon[1] zum Nährboden ändert an diesem Verhalten nichts. Durch den Thierkörper geschickt, zeigt a zeitweise (6 Tage lang) weniger üppiges Wachsthum, so dass eine Art Zwischenform zwischen den Originalculturen a und b zu Stande kommt; b lässt sich aus dem Thierkörper nicht wieder herauszüchten, obgleich der Tod bereits nach 71 Stunden erfolgt war.

Die Cultur repräsentirt eine Diphtheriebacillenform, welche zum Wachsthum auf Agar wenig geeignet ist. Neben zahlreichen, auf diesem Nährboden kümmerlich wachsenden Formen, tritt nur eine einzige Colonie auf, welche üppigeres Wachsthum entfaltet. Es gelingt nicht, noch andere Colonieen zu kräftigerem Wuchse zu bekommen. Die Unterschiede zwischen Stamm a und b bleiben dauernd ohne verbindende Zwischenformen bestehen, so dass Cultur VI den von Zupnik beobachteten Eigenthümlichkeiten i. A. entspricht.

[1] In erschöpfter Streptokokkenbouillon wächst der Diphtheriebacillus üppiger (Bernheim). Wir setzten derartige, durch Erwärmen auf 100° sterilisirte Bouillon reichlich zum Agar, nachdem das Condenswasser entfernt war. Mehrfach konnten wir ebenfalls das raschere und üppigere Wachsthum der Diphtherieculturen auf diesem Nährboden constatiren.



Cultur VII. Wachsthum ziemlich kräftig. Es entwickeln sich in 3 Tagen zwei verschiedene Arten: a bis 2 mm grosse, runde, undurchsichtige, graue, wenig erhabene Colonieen von geringem Glanz, b bis 0·8 mm grosse, runde, undurchsichtige, grauweisse, etwas erhabene, glänzende Colonieen. Im weiteren Verlauf verliert b seinen Glanz und die Unterschiede verwischen sich. Beide Colonieen werden isolirt weiter gezüchtet, um zu sehen, ob den ursprünglichen Differenzen auch solche der Virulenz und des Wachsthums auf anderen Nährböden entsprechen.

Auffallend bleibt das dauernd geringe Höhenwachsthum und das wenig glänzende Aussehen des ganzen Stammes; auch auf Streptokokkenbouillonagar sowie nach Passage durch den Thierkörper tritt hierin eine Aenderung nicht ein.

Cultur VIII. Wachsthum ziemlich kräftig. Auch hier entwickeln sich zunächst zwei verschiedene Arten: grössere, erhabene, glänzende (a) und kleinere, wenig erhabene, wenig glänzende Colonieen (b). Nach Trennung derselben zeigt sich im Laufe einer Woche eine Transformation in b, wodurch der grösste Theil der Colonieen gleich denen des Stammes a wird. Doch bleibt selbst nach 30 Tagen eine Anzahl von Colonieen in platter, wenig glänzender Form erhalten. Wenn von letzteren wiederum auf Agar ausgeimpft wird, erfolgt stets erst spärliches, dann zum Theil üppigeres (glänzendes) Wachsthum. Dauernd bleiben Grössendifferenzen, so dass a in 30 Tagen etwa 4 mm, b etwa 0·8 bis 1·5 mm Durchmesser aufweist.

Die Cultur zeigt demnach eine Art Mittelstellung zwischen I und VI; bei ersterer sind alle Colonieen transformationsfähig, bei letzterer geht der überwiegenden Mehrzahl von Colonieen diese Eigenschaft ab; hier veranlasst jede neue Ueberimpfung immer wieder eine Reihe von Transformationen, ohne dass jedoch alle Colonieen gleichmässig sich ändern. Stets bleibt eine Anzahl sozusagen zurückgebliebener Colonieen übrig. Ob bei gleichmässig feuchter Beschaffenheit des Nährbodens, d. h. durch Vermeidung des Austrocknens des Agars auch diese letzteren Colonieen sich umgeformt hätten, liess sich nicht entscheiden, da es nicht gelang, den Agar über 30 Tage gleichmässig feucht zu erhalten. Die einmal transformirten, d. h. erhaben und glänzend gewordenen Colonieen blieben bei neuen Ueberimpfungen unverändert.

So zeigt Cultur VIII zwar Differenzen im Wachsthum, doch fanden zwischen ihnen fortwährend Uebergänge statt.

Cultur IX. Wachsthum ziemlich kräftig und zunächst gleichmässig, Colonieen rund, wenig erhaben, wenig glänzend. Nach 5 Tagen zeigen sich erhabene, glänzende Colonieen neben den eben beschriebenen. Dies führt zur Isolirung zweier Arten, doch zeigt sich, dass die Unterschiede



nur vorübergehend bestehen und durch Umwandlung von b sich ausgleichen. Die getrennte Beobachtung wird aus den gleichen Gründen wie VII fortgesetzt.

Cultur X. Wachsthum mässig kräftig. Nach 3 Tagen zeigt das Agarröhrchen mehrere, 3 mm breite, runde, erhabene, feuchtglänzende, undurchsichtige, sowie zahlreiche, Thautropfen ähnliche gerade sichtbare, transparente Colonieen. Getrennt weiter gezüchtet zeigt a (das üppigere) sich nach 24 Stunden gegen b noch sehr zurück im Wachsthum (0·1 mm Durchmesser zu 1·5 mm). Beide sind Anfangs transparent, wenig erhaben und wenig glänzend. Während nunmehr a sehr bald kräftig wächst und nach 6 Tagen bis 4 mm Grösse erreicht, auch erhaben und üppig aussieht, bleibt b längere Zeit bei 3 mm Durchmesser stehen und verändert sein Aussehen nicht. Erst nach 20 Tagen differenziren sich in b die einzelnen Colonieen, indem neben den wenig erhabenen üppigere, glänzende auftreten. Die Zahl derselben nimmt mehr und mehr zu, doch wird die völlige Transformation durch das Eintrocknen des Nährbodens gestört, so dass nach 30 Tagen im Reagensglas ein buntes Gemisch verschiedenartiger, grösserer und kleinerer, erhabener und platter, glänzender und glanzloser Colonieen besteht. Werden hieraus wieder neue Culturen isolirt, so wiederholt sich derselbe Vorgang, wenn als Stamm eine platte, glanzlose Colonie genommen wird. Nach wiederholtem Ueberimpfen gelingt es schliesslich nicht mehr, die Differenzirung der Colonie aufrecht zu erhalten, der Stamm b wächst nunmehr wie a, der Diphtheriebacillus hat sich völlig dem neuen Nährboden angepasst.

Cultur XI. Wachsthum ziemlich kräftig; die einzelnen Colonieen erreichen in 6 Tagen 3 mm Durchmesser und wachsen von vornherein üppig, erhaben, feuchtglänzend. Ihr Aussehen weicht von dem gewöhnlichen Bild der Diphtherie ab und erweckt den Verdacht der Pseudodiphtherie.[1] Verschiedenheiten der einzelnen Colonieen bestehen nicht.

Cultur XII. Wachsthum mässig kräftig, in 30 Tagen wird 2·5 mm Durchmesser erreicht. Die Uebertragung der 116 Tage alten Serumstammcultur auf Agar macht besondere Schwierigkeiten, erst nach 6 maligem erfolglosen Ueberimpfen gelingt es, einige lebensfähige Keime zu erhalten. Die Colonieen zeigen dauernd geringe Neigung zum Höhenwachsthum und gewinnen erst nach längerer Zeit mässigen Glanz. Verschiedenheiten unter den einzelnen Colonieen treten nicht auf.

---

[1] Die Culturen XI, XIII, XVII und XVIII erwiesen sich, um dies gleich vorweg zu nehmen, als Pseudodiphtherie. Stamm XII stellt eine avirulent gewordene Diphtheriecultur dar.



Cultur XIII. Wachsthum mässig kräftig, so dass in 30 Tagen die Colonieen bis 3 mm Durchmesser erreichen. Die Cultur zeigt dasselbe üppige feuchtglänzende Aussehen, wie Stamm XI. Verschiedenheiten in den einzelnen Colonieen treten nicht auf.

Cultur XIV. Wachsthum mässig kräftig. Bei der ersten Impfung auf Agar zeigen sich zahlreiche, platte, graue, wenig glänzende Colonieen, unter ihnen zwei erhabene, glänzende. Nach getrennter Weiterzüchtung zeigt sich binnen Kurzem eine Transformation der platten Colonieen in erhabene, woran alle Colonieen gleichmässig Theil nehmen. Nach 30 Tagen bestehen nur noch Grössenunterschiede, sonst ist Stamm a und b völlig gleich. Weitere Züchtung verwischt auch diese Differenzen, so dass Stamm 14 nur eine Art repräsentirt. Die einmal isolirten Stämme werden behufs genauerer Untersuchung auch fernerhin getrennt weiterbehandelt.

Cultur XV. Wachsthum ziemlich kräftig, alle Colonieen zeigen gleiches Aussehen. Gelegentlich einer Uebertragung der Cultur aus Bouillon auf Agar treten zwei verschiedene Wachsthumsformen auf. Die isolirt weitergezüchteten Stämme bewahren andauernd ihre Verschiedenheiten: a repräsentirt sich in sehr erhabenen, glänzenden Colonieen, b ist wenig erhaben, fast platt, wenig glänzend.

Ein nur kurze Zeit bestehender Glanz des Stammes b verliert sich, am Ende der Beobachtung (nach 30 Tagen) treten die Differenzen in a und b scharf hervor. Erst nach mehr als 30 Tagen, sowie nach wiederholten Uebertragungen wächst b zum Theil kräftiger und gewinnt allmählich das Aussehen von a.

Cultur XVI. Wachsthum mässig kräftig, so dass die Colonieen in 30 Tagen 3 mm Durchmesser erreichen. Differenzen treten nicht auf, der Stamm bleibt einheitlich.

Cultur XVII. Wachsthum mässig kräftig, in 30 Tagen bis 3 mm. Die Colonieen sind erhaben, weissgrau, feuchtglänzend, zeigen demnach das Aussehen von Stamm XI (Pseudodiphtherie).

Cultur XVIII. Wachsthum ziemlich kräftig, in 30 Tagen bis 4 mm, doch meist confluirt. Aussehen wie Stamm XI (Pseudodiphtherie).

Cultur XIX. Wachsthum mässig kräftig, die Colonieen erreichen in 30 Tagen bis 2 mm Durchmesser. In den ersten Tagen sind die Colonieen wenig erhaben, wenig glänzend, später treten einzelne erhabene, glänzende Knöpfe auf, die an Zahl zunehmen, bis schliesslich alle Colonieen das gleiche Aussehen gewonnen haben. Der Stamm repräsentirt eine einheitliche Art, dessen einzelne Glieder erst allmählich auf Agar zu üppigerem Wachsthum gelangen.

Eine isolirte Weiterzüchtung wird nicht vorgenommen.



Cultur XX. Wachsthum mässig kräftig. Nach kurzer Zeit zeigen sich an den Colonieen geringe Unterschiede, insofern die einen bis 1 mm gross, grauweiss, undurchsichtig, glanzlos erscheinen, während die anderen 0·1 mm gross, grau, transparent und wenig glänzend sich repräsentiren. Getrennt weitergezüchtet, behalten die Colonieen zunächst ihre Differenzen bei, später verwischen sich dieselben.

Auffallend bleibt, dass beide Stämme wie Nr. 7a und b wenig erhaben und wenig glänzend wachsen. Erst nach 30 Tagen zeigen sich in beiden Röhrchen vereinzelte, grauweisse, glänzendere Knöpfchen, deren weitere Entfaltung durch das Eintrocknen des Nährbodens verhindert wird.

Bessere Entwickelung zeigen beide Arten auf Agar, welchem sterilisirte Streptokokkenbouillon zugesetzt ist. Hier wachsen beide Stämme zu erhabenen, glänzenden Colonieen aus, welche diese Eigenschaften auf dem gleichen Nährboden dauernd behalten, auf einfachem Agar jedoch wieder verlieren.

Aus dem Thierkörper auf Agar zurückgeimpft, wachsen diese Stämme Anfangs erhaben, glänzend, gehen dieser Eigenschaft jedoch beim Weiterübertragen verlustig und bleiben wenig erhaben, fast glanzlos.

Cultur XXI. Wachsthum mässig kräftig, so dass die Colonieen in 30 Tagen 2 mm Durchmesser erreichen. Das Aussehen ist von Anfang an einheitlich erhaben, glänzend.

Cultur XXII. Dieser Stamm wächst völlig gleich dem Stamm XXI und besteht aus einheitlichen Colonieen.

Cultur XXIII. Wachsthum mässig kräftig. Nach 3 Tagen zeigen sich verschiedene Arten von Colonieen; die einen grösser (1·5 mm) erhaben, glänzend (a), die anderen kleiner (0·8 mm), wenig erhaben, wenig glänzend. Im ferneren Verlauf, sowie bei den weiteren Uebertragungen auf Agar bleiben Differenzen in Grösse und Aussehen dauernd bestehen.

Bei Uebertragung von Stamm b auf Streptokokkenbouillonagar ist das Wachsthum zunächst ebenfalls kümmerlich, erst nach 10 Tagen zeigen sich Differenzirungen, indem erhabene, glänzende Colonieen neben den wenig erhabenen, fast glanzlosen auftreten; doch werden nicht alle Colonieen transformirt, selbst nach 30 Tagen sind noch zahlreiche, fast glanzlose, platte Colonieen vorhanden. Werden letztere wieder auf Streptokokkenbouillonagar übertragen, so wiederholt sich das gleiche Spiel. Culturen von Streptokokkenbouillonagar auf einfachen Agar angelegt, werden der Stammcultur gleich, wenn sie von den platten, wenig glänzenden Colonieen stammen. Wird von den auf Streptokokkenbouillonagar transformirten Colonieen auf einfachen Agar übergeimpft, so zeigen sich nach 3 Tagen bereits verschiedene Wachsthumsformen (glanzlose platte und



glänzende erhabene Colonieen); die letzteren nehmen mehr und mehr zu und schliesslich transformiren alle Colonieen und wachsen — weiter übertragen — nunmehr dauernd glänzend und erhaben auf Agar.

Wir haben demnach in b einen Diphtheriestamm vor uns, welcher zunächst zum Wachsthum auf Agar wenig geeignet ist und erst durch Cultiviren auf Streptokokkenbouillonagar zu üppigerer Entfaltung auf einfachem Agar kommt.

Cultur XXIV. Wachsthum mässig kräftig, so dass die einzelnen Colonieen in 30 Tagen 2 ^{mm} Durchmesser erreichen.

Die Colonieen sind erhaben, glänzend und zeigen keine Differenzen.

Cultur XXV. Wachsthum kräftig, die einzelnen Colonieen erreichen in 30 Tagen 4 ^{mm} Durchmesser.

Anfangs treten Differenzen auf (transparente, graue, platte glanzlose und undurchsichtige, grauweisse, erhabene, glänzende Colonieen), doch verschwinden die Unterschiede nach kurzer Zeit, der Stamm wächst erhaben, glänzend und bleibt einheitlich.

Cultur XXVI. Wachsthum mässig kräftig.

Zunächst sehen die Colonieen einheitlich aus (wenig erhaben, wenig glänzend), dann treten erhabene, glänzende Colonieen neben den ursprünglichen auf.

Da die Differenzen sich dauernd zu erhalten scheinen, werden die Arten isolirt.

Die Cultur, welche von den erhabenen, glänzenden Colonieen gewonnen wird, zeigt die gleiche Wachsthumsform; diejenige, welche aus den wenig erhabenen, wenig glänzenden stammt, behält zunächst dieses Aussehen bei, erst nach 30 Tagen differenzirt sich auch dieser Stamm und producirt grauweisse, glänzende Colonieen. Wird von den nunmehr transformirten Colonieen weiter auf Agar geimpft, so entsteht eine erhabene, glänzende Cultur, werden die wenig erhabenen, wenig glänzenden Colonieen übertragen, so erneuert sich die Transformation.

Cultur XXVII. Wachsthum ziemlich kräftig.

Es treten bei gleicher Grösse (1 ^{mm}) innerhalb einiger Tage zwei verschiedene Arten von Colonieen auf (wenig erhabene, undurchsichtige, glänzende und platte, transparente, glanzlose), welche getrennt als a und b weitergeimpft werden.

Beide Stämme sind dauernd wenig erhaben. Cultur a zeigt nach 3 Tagen glänzendes Aussehen, b bleibt fast glanzlos; später, nach 20 Tagen, verliert a seinen Glanz, während b in erhabene, glänzende Colonieen theilweise transformirt. Nach 30 Tagen ist b zum grössten Theil transformirt, a zeigt wenig erhabenes, wenig glänzendes Aussehen.

Durch den Thierkörper geschickt, wächst a wenig erhaben, glänzend, auf Streptokokkenbouillonagar zeigt es lebhafte Transformation, die zum üppigen Wachsthum fast aller Colonieen führt. Von hier auf Agar zurückübertragen, zeigt es gleiche Transformation wie b.

Cultur XXVIII. Wachsthum mässig kräftig, die einzelnen Colonieen erreichen in 30 Tagen 2 ^{mm} Durchmesser.

Der Stamm wächst einheitlich.

Cultur XXIX. Wachsthum mässig kräftig. Nach kurzer Zeit differenziren sich glanzlose platte und glänzende erhabene Colonieen. Bei getrennter Weiterzüchtung verwischen sich durch stete Transformation die Unterschiede, so dass von einer weiteren isolirten Behandlung abgesehen wird.

Cultur XXX. Wachsthum mässig kräftig, in 30 Tagen wird 2 ^{mm} Durchmesser von den einzelnen Colonieen erreicht.

Der Stamm wächst einheitlich.

Die Resultate der Züchtungen auf Agar sind folgende:

Unter den 30 Stämmen entwickeln sich 4 (Nr. 11, 13, 17 und 18) üppig, feuchtglänzend, coliähnlich.

Von den übrigen 26 Culturen zeigten 9 von Anfang an einheitliches Wachsthum (1, 3, 12, 16, 21, 22, 24, 28, 30); 17 wachsen in mehr oder weniger verschiedenen Formen (2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 14, 15, 19, 20, 23, 25, 26, 27, 29), welche 12 Mal die Isolirung in 2 Arten veranlasst.

Bei diesen 17 Culturen gehen die Anfangs constatirten Unterschiede im Lauf der Beobachtung verloren in 15 Fällen (2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 14, 15, 19, 20, 25, 26, 27, 29).

Eine Cultur (23) mit 2 verschiedenen Wachsthumsformen lässt sich durch zeitweiliges Züchten auf Streptokokkenbouillonagar in eine einheitliche Form überführen. Cultur 6 zeigt allein andauernd 2 verschieden wachsende Arten.

Die Transformation der Culturen b beginnt:

am 2. Tage	. . . . .	bei 14,
„ 3. „	. . . . . .	„ 2 und 8,
„ 6. „	. . . . . .	„ 27,
„ 9. „	. . . . . .	„ 9,
„ 20. „	. . . . . .	„ 10,
„ 30. „	. . . . . .	„ 26,
nach 30 Tagen	. . . . . .	„ 15.



Innerhalb 30 Tagen transformiren alle Colonieen bei 2b, 9b, 14b, nur ein Theil bei 8b, 10b, 26b, 27b (15b erst später).

Die Unterschiede der Colonieen werden verwischt durch Verlust ursprünglich glänzenden Aussehens bei 7b, durch Uebergang aus dem glanzlosen in den wenig glänzenden Zustand bei 20a.

Die Grösse der einzelnen Colonieen schwankt nach 30 Tagen zwischen 0·8 und 6 mm.

Wenig kräftig (unter 2 mm) wachsen: 8b, 10b, 20b, 23b, (26b),[1] 29; mässig kräftig (zwischen 2 und 4 mm) wachsen: 2a, 4, 5, 6a, 6b, 7a, 7b, (8b), 9b, (10b), 12, 13, 14a, 15b, 17, 19, 20a, 21, 22, 23a, 24, 26b, 27b, 28, (29), 30; kräftiger entwickeln sich (über 4 mm): 1, 2b, 3, 8a, 9a, 10a, 11, 14b, 15a, 16, 18, 25, 26a, 27a.

Die Diphtherieculturen zeigen kein einheitliches Aussehen auf Agar, sondern bewegen sich innerhalb zweier Extreme: entweder sie sind wenig erhaben, wenig glänzend, transparent, fast gleich den Streptokokkencolonieen oder sie entwickeln sich erhaben, glänzend grauweiss, etwa wie der Staphylococcus pyogenes albus wächst. Zwischen diesen beiden Extremen kommen zahlreiche Uebergänge vor. Anfangsculturen, d. h. solche, die zum ersten Mal auf Agar kommen, pflegen meist nach erster Richtung sich zu entwickeln; alte, schon länger auf Agar gezüchtete, bieten mehr den zweiten Typus dar.

Die Einzelheiten des Wachsthums auf Agar befinden sich in Tabelle I.

Glycerinagarculturen.

Zur Verwendung kam 5procent., frisch bereiteter Glycerinagar.

Die Einzelheiten des Wachsthums enthält Tabelle II, auf welche verwiesen wird.

Es ergab sich Folgendes:

Das Breitenwachsthum schwankt nach 25 Tagen zwischen 0·6 und 6 mm. Besonders dürftiges Wachsthum (unter 2 mm) zeigt Stamm 13, 17 (Pseudodiphtherie!), 20a, 21, 23a; üppig (über 4 mm) wächst 4, 7b, 9b, 16, 26a, 27a, 28.

Sehr rasches Wachsthum producirt 2a (in 48 Stunden bis 3 mm), 7a (bis 2 mm), 7b (bis 3 mm); sehr langsames Wachsthum 12 (in 48 Stunden bis 0·2 mm), 20a (bis 0·3 mm), 22 (bis 0·2 mm), 23a (bis 0·1 mm), 23b (bis 0·2 mm), 24 (bis 0·1 mm).

[1] Die eingeklammerten Zahlen geben transformirte Colonieen an; öfter zeigten dieselben gleiche Grösse wie die nicht transformirten.



Am Schluss der Beobachtung zeigen gleiches Wachsthum auf Glycerinagar und einfachem Agar 10 Culturen, grösseres Wachsthum auf Agar 15, kleineres 17.

Die Agarculturen erweisen sich um mehr als 2 mm breiter als die entsprechenden Glycerinagarculturen bei 2b, 3, 9a; um ebensoviel kleiner bei 4, 8a, 9b, 16, 23b, 28.

Das Höhenwachsthum auf Glycerinagar ist bei der überwiegenden Mehrzahl der Culturen ein geringes. Erhaben wächst 25, wenig erhaben 9a, 10a, 12, 20b, 21, 23a, 26a, 27a, 28, 29, 30, die übrigen sind platt. Die Pseudodiphtherieculturen 11, 13, 17 und 18 sind feuchtglänzend, üppig, erhaben.

Die Form der einzelnen Colonieen ist meist rundlich; eckige Contouren zeigen 2a, 9a, 23b, 26a bis 30.

Das Aussehen der Colonieen ist glanzlos bei 3, 9b, 10b, 15, 19, 20a, 22, 23a, 23b, 26b, 27b, wenig glänzend bei 1, 2a, 2b, 4 bis 9a, 10a, 14a, 14b, 16, 20b, 21, 24, 27a, 28 bis 30; glänzend sind 25 und 26a; feuchten Glanz zeigen die Pseudodiphtheriestämme 11, 13, 17 und 18. Transparent nach 25 Tagen erscheinen die Colonieen 19 bis 24, alle übrigen sind undurchsichtig.

Nabelbildung wurde sehr häufig beobachtet.

Die 26 Diphtheriestämme wachsen demnach auf Glycerinagar im Allgemeinen gleichmässig, entwickeln geringes Höhenwachsthum und geringen Glanz. Charakteristische Unterschiede zwischen den a- und b-Culturen treten nicht auf.

Das Wachsthum der Stämme auf Glycerinagar ist nicht üppiger wie auf einfachem Agar.

Blutserumculturen.

Zur Verwendung kam bei 60° sterilisirtes Rinderblutserum, dem keinerlei Zusätze beigegeben waren.

Das Wachsthum war ein sehr gleichmässiges. Alle Stämme wuchsen erhaben, glänzend, undurchsichtig, grauweiss und trübten das Condenswasser.

Die Grössendifferenzen der einzelnen Colonieen nach 30 Tagen schwankten zwischen 1 und 7 mm.

Besonders üppig (über 4 mm) wuchs 3, 4, 5, 7b, 8a, 8b, 9a, 9b, 10a, 10b, 11, 14b, 15b, 17, 20a, 22, 27b; dürftiges Wachsthum (unter 2 mm) zeigte 12 und 20b.

Differenzen zwischen den Stämmen a und b fanden sich nicht.

Gegen Ende der Beobachtung bekamen eine Reihe von Culturen gelbliche Färbung.



Abweichendes Wachsthum zeigten die Pseudodiphtheriestämme 11 (fettigen Glanz), 13, 17 und 18 (coliähnliches Aussehen).

Eckige Contouren wiesen 7a und 23b auf.

Die näheren Einzelheiten des Wachsthums auf Blutserum enthält Tabelle III.

Gelatineculturen.

Es wurde eine 10procent. Peptonbouillongelatine als Nährboden verwandt. Die Einzelheiten des Wachsthums enthält die Tabelle IV.

Es ergab sich Folgendes:

Das Breitenwachsthum der einzelnen Strichculturen schwankte nach 30 Tagen zwischen 0·1 und 4 ^{mm}. Besonders dürftiges Wachsthum zeigte Stamm 2b, 3, 10b, 12, 29 und 27b. Ueppiger (über 1 ^{mm}) wächst Nr. 1, 6a, 7a, 8a, 9b, 13, 16, 19, 20a, 20b, 23a, 23b, 24, 25, 26a, 26b und 30. Verhältnissmässig rasches Wachsthum zeigt Nr. 11 (1 ^{mm} Durchmesser nach 7 Tagen), ein sehr langsames dagegen 3, 10b und 29 (nicht über 0·3 ^{mm} nach 40 Tagen).

Die Stichculturen sind im Allgemeinen auch nach 40 Tagen noch sehr fein; nur bei Nr. 2a, 7a, 7b, 9b, 13, 14a, 14b, 21, 24, 25, 26b, 27a konnte man gut die einzelnen Colonieen unterscheiden und dieselben ungefähr schätzen (0·1 bis 0·4 ^{mm}).

Am Schluss der Beobachtung — 40 Tage — waren die Grössenunterschiede zwischen den verschiedenen Stämmen ziemlich gross.

Die Culturen 10a, 15, 16, 19, 20a, 22, 23b, 26b, 27b und 28 zeigen verschiedene Colonieen; sie sind erst sehr zart gewachsen, nach 25 bis 40 Tagen aber entwickelten einige Colonieen sich rasch üppiger. Bei 20a und 23b konnte man diese Differenzirung schon früher (nach 10 bis 14 Tagen) beobachten. Es scheint, dass einzelne Keime sich rascher an den Nährboden gewöhnen und kräftigere Colonieen bilden. Mikroskopisch entsprechen diesen Colonieen kräftigere, gut gefärbte, kürzere, weniger degenerirte Bacillen.

Das Höhenwachsthum auf Gelatine ist bei der überwiegenden Mehrzahl der Culturen ein ziemlich bedeutendes. Platt wächst nur 27b und 29, wenig erhaben Nr. 1, 2b, 3, 4, 7a, 9, 10b, 12, 20a, 20b, 23b, 26b und 28; die übrigen Culturen sind erhaben. Bei den Culturen 20a, 23b, 26b, 27b und 28 kann man wie gesagt erhabene, üppigere und wenig erhabene dürftigere Colonieen, von derselben Cultur gezüchtet, unterscheiden.

Die avirulenten Culturen 11, 13, 17 und 18 zeigen kein abweichendes Aussehen, sie sind alle erhaben.



Im Allgemeinen wuchsen die Diphtheriebacillen auf Gelatine langsam. Es ist ferner zu bemerken, dass die Cultur 9 sehr langsam wächst (kaum 0·4 mm in 40 Tagen), während die später isolirten und gezüchteten 9a und 9b schon nach 7 Tagen grösser als 0·5 mm sind und nach 40 Tagen mehr als 3 mm Durchmesser haben. Das wäre auch ein Zeichen der Adaptation des Diphtheriebacillus an den Nährboden.

Das Aussehen der Colonieen ist glanzlos bei Nr. 1, 2a, 2b, 3, 4, 6b, 7a, 8b, 10b, 12, 15, 17, 20b, 21, 27b, 28 und 29; glänzend bei Nr. 6a, 8a, 9b, 20a, 23b und 30; wenig glänzend bei den übrigen Stämmen. Bei den Nr. 15, 27b, 28 sind wenig glänzende und glanzlose; bei Nr. 20a und 23b glänzende und wenig glänzende Colonieen zu unterscheiden.

Alle Culturen sind erst transparent, später werden sie allmählich undurchsichtig.

Resumé. Die 42 Diphtheriestämme wachsen auf Gelatine im Allgemeinen ziemlich gleichmässig, sehr langsam, entwickeln bedeutendes Höhenwachsthum und ziemlich wenig Glanz. Charakteristische Unterschiede zwischen den Culturen a und b treten nicht auf. Sie wachsen ganz gut auch in der Tiefe der Gelatine, ohne ein charakteristisches Aussehen anzunehmen.

Kartoffelculturen.

Unsere Culturen wurden auf schräg geschnittenen Kartoffelcylindern angelegt, welche in Reagensgläsern mit reichlichem Wasser, aber ohne Alkalisirung, mehrmals auf 100° sterilisirt waren.

Alle Diphtheriestämme sind auf diesem Nährboden gewachsen. Das Wachsthum ist sehr langsam und spärlich. Nach 48 Stunden konnte man einen dünnen Belag kaum unterscheiden; derselbe war gewöhnlich grau, graugelblich oder grauweiss, meist feucht und transparent, so dass die Farbe des Nährbodens durchschien.

Bemerkbare Unterschiede zwischen den verschiedenen Stämmen auf Kartoffel traten nicht auf, insbesondere nicht zwischen den a- und b-Culturen.

Die Stämme 11 und 17 wuchsen viel üppiger, einen feuchten, dicken, graubräunlichen Belag bildend; die anderen avirulenten Stämme 13 und 18 unterschieden sich nicht von den übrigen virulenten.

Bei weiterer Beobachtung, nach 13 und 21 Tagen, zeigten die Culturen nur insofern eine Veränderung, als sie nur etwas deutlicher zu sehen waren.

Die Einzelheiten des Wachsthums enthält die Tabelle V.



Milchculturen.

In der einfach sterilisirten, etwas saueren Milch wuchsen alle unsere Stämme ganz gut, ohne irgend welche Veränderung derselben hervorzurufen.

Wenn gelegentlich in einem Röhrchen Gerinnung stattfand, so zeigte sich stets, dass die betreffende Cultur durch andere Bakterien verunreinigt war. So ist es vielleicht zu erklären, dass einzelne Beobachter angeben, der Diphtheriebacillus mache Milch gerinnen.

Auch die avirulenten Stämme Nr. 11, 13, 17 und 18 haben die Milch nicht zum Gerinnen gebracht.

Bouillonculturen (s. Tabelle VI).

Alle 42 Culturen haben nach 24 Stunden eine allgemeine Trübung der Bouillon hervorgerufen.

Bei 15 Culturen (Nr. 3, 4, 5, 6a, 6b, 8a, 8b, 9, 14a, 14b, 15a, 23a, 24, 26a, 28 und 29) konnte man in der leicht getrübten Bouillon auch kleine Bröckelchen unterscheiden, welche mehr an den Wänden des Röhrchens hafteten; bei der Cultur 21 (vom hygienischen Institut) waren keine solche Bröckelchen zu sehen.

Die Pseudodiphtherieculturen (11, 13, 17 und 18) zeigten nur eine allgemeine Trübung ohne Bröckelchen.

Bei den Nrn. 27, 26, 14, 9 und 6 sind Bouillonculturen vor und nach der Differenzirung in a und b angelegt worden; es zeigte sich kein Unterschied zwischen 6, 6a und 6b, zwischen 14, 14a und 14b, 27, 27a und 27b; dagegen zeigte Nr. 9 eine deutliche Bröckelbildung, während 9a und 9b einfache Trübung aufwiesen. Ferner zeigten 15 und 15b allgemeine Trübung ohne Bröckelchen, während diese sehr gut bei Nr. 15a zu sehen sind. Nr. 26 und 26a zeigten Bröckelbildung, 26b nur eine allgemeine diffuse Trübung. In den etwas später angelegten Culturen von Nr. 11 und 26b kam auch eine deutliche Bröckelbildung zum Vorschein.

Die Bröckelbildung ist also kein constantes Kennzeichen, weder für die Diphtherie im Allgemeinen, noch auch für ein und dieselbe Cultur. Man kann das Vorhandensein oder Fehlen derselben deshalb nicht zur Annahme verschiedener Diphtheriebacillenarten verwenden.

Die Membranbildung auf der Oberfläche der Bouillon fehlt vollständig bei den Nrn. 10a, 11, 12 und 30. Bei den anderen Culturen ist sie sehr unregelmässig zwischen den ersten 24 Stunden und dem 7. Tage erschienen. In den ersten 24 Stunden war sie zu beobachten bei Nr. 6a,

7a, 8a, 9a, 9b, 14a, 14b, 15a, 15b, 18, 19, 22, 23a, 23b, 26b, 26a, 27, 27a, 27b und 28; nach 48 Stunden bei Nr. 6, 7b, 9, 15, 24, 25 und 26; nach 4 Tagen bei Nr. 3, 5, 8b, 13, 14, 16 und 21; nach 7 Tagen bei Nr. 1, 2a, 4, 6b, 10b, 17, 20a, 20b und 29; nach 10 Tagen bei 2b.

Die Membran ist im Allgemeinen eine mehr constante Erscheinung, sie fehlte vollständig nur bei 4 von 48 Röhrchen. Bemerkenswerth ist, dass die Membran bei den ersten Originalculturen erst später erschienen ist, als bei den nachher unter a und b gezüchteten. Es scheint, dass dieses Phänomen kräftiger, schöner bei den Culturen zum Vorschein kommt, welche schon seit längerer Zeit auf künstlichen Nährböden gezüchtet worden sind. Die avirulente Cultur 11 zeigte keine Membranbildung, die Nr. 18 dagegen in den ersten 48 Stunden, Nr. 17 erst nach 7 Tagen und 13 nach 4 Tagen, also genau so verschieden, wie die einzelnen virulenten Diphtherieculturen.

Der Bodensatz ist gewöhnlich in den ersten Tagen gering und mehr bröckelig; mit der Zeit wird er reichlicher, mehr adhärent, schwer löslich in der Culturflüssigkeit, beim Schütteln in einen dicken Faden sich ziehend. Er bildet keinen charakteristischen Unterschied zwischen den verschiedenen Culturen. Die avirulenten Culturen zeigen die gleichen Eigenschaften; bei Nr. 12 ist vielleicht hervorzuheben, dass der Bodensatz immer gering gewesen ist; die Cultur 12 wuchs überhaupt sehr schwer.

Die Reaction war nach 24 Stunden bei fast allen Culturen neutral; sehr leicht sauer war sie bei den Nrn. 2a, 6a, 6b, 11, 14, 14a, 14b, 20b und 27; neutral mit einem Stich in alkalisch war sie bei Nr. 15b, 21, 26a, 26b und 27b. Nach 48 Stunden wurden nur die Hälfte der Culturen leicht sauer, neutral blieben 23 Stämme (Nr. 1, 2a, 2b, 3, 4, 6, 7b, 8a, 8b, 9, 9a, 10a, 10b, 12, 18, 20a, 22, 23a, 23b, 24, 26b, 27 und 28). Nach 4 Tagen waren leicht alkalisch die vorher saueren Nrn. 6b, 9a, 13, 14a, 15, 15b (fast neutral), 18 und 19 (fast neutral); es blieben neutral die Nrn. 12, 20a, 23a, 24 (vielleicht etwas alkalischer geworden), 27 und 28; die übrigen sind noch sauer geblieben oder geworden. Nach 7 bis 12 Tagen sind alle die Culturen alkalisch geworden, nur 9b, 27a und 29 wurden es erst nach 20 Tagen.

Die avirulenten Culturen (11, 13, 17 und 18) haben dieselben Phasen durchgemacht: sie sind erst sauer und nachher alkalisch geworden; nur bei Nr. 18 sind diese Phasen nicht deutlich aufgetreten. Allerdings war das Gleiche der Fall bei Nr. 2b, 9a, 22, 23a, 23b, 24, 26b und 28, welche sehr virulent waren.

Diese Phasen, wahrscheinlich abhängig vom Zuckergehalte der Bouillon (Spronck u. A.), sind nicht charakteristisch für die Diphtheriebacillen.

Sie sind weder zur Unterscheidung verschiedener Diphtheriestämme, noch für die Trennung von Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen zu verwerthen, eine Beobachtung, welche den bereits von Martin gemachten Mittheilungen entspricht.

Mikroskopische Untersuchungen.

Ueber das Ergebniss derselben im Einzelnen s. Tabelle VII.

Die Grösse und Dicke der Diphtheriebacillen[1] zeigt auf verschiedenen Nährböden und bei verschiedenen Culturen ein sehr variables Verhalten; auch bei ein und derselben Cultur und dem gleichen Nährboden bestehen dieselben Differenzen, für welche sich eine Erklärung nicht geben lässt. Die Pseudodiphtheriebacillen wachsen auf den meisten Nährböden in kurzen, ziemlich schlanken oder ziemlich dicken Formen.

Besonders kurze Bacillen producirte Stamm 12 auf Glycerinagar und Blutserum, Cultur 17 auf Gelatine, 20a auf Kartoffel. Die mikroskopischen Präparate gewährten bei flüchtigem Hinsehen den Eindruck von Staphylokokken, bei näherem Zusehen und starken Vergrösserungen liess sich jedoch feststellen, dass die scheinbaren Kokken aus kleinsten, dicken Stäbchen bestanden, welche durch ihre parallele Lagerung und ihre bisweilen zugespitzten Enden als Diphtheriebacillen erkenntlich waren. Ueberimpfen auf andere Nährböden veranlasste wieder das Auftreten längerer Formen.

Segmentirte Färbung der Bakterienleiber wurde in der überwiegenden Mehrzahl der Culturen beobachtet; die Pseudodiphtheriestämme zeigten im Allgemeinen mehr Neigung zu totaler Farbstoffaufnahme.

Sogenannte Degenerationsformen traten ebenfalls reichlich auf; auch die Pseudodiphtherieculturen entwickelten solche, wenngleich seltener.

Die Lagerung der Bacillen zeigte in allen Präparaten ein gleichmässiges Verhalten: entweder sie erfolgte in wirren durcheinandergewürfelten Haufen oder die einzelnen Stäbchen legten sich dicht gedrängt parallel an einander, wie die Pallisaden eines Zaunes. Auch in den einzelnen wirren Haufen überwog stets die Neigung der Bacillen, sich zu paralleler Lage zu vereinigen. Diese Eigenthümlichkeit ist so charakteristisch und constant, dass aus ihr stets mit grösster Wahrscheinlichkeit die Diagnose der Diphtherie gestellt werden kann. Leider allerdings theilt der Pseudodiphtheriebacillus diese Eigenschaft.

[1] Selbstverständlich zeigten sich in jedem Präparate Bacillen von verschiedenster Grösse, Dicke u. s. w., doch überwog stets eine Form, welche zur Beschreibung kam.

Färbung nach Gram.

Dieselbe wurde an 24 Stunden alten Agarculturen in der gewöhnlichen Weise vorgenommen. Es kamen stets 6 bis 12 verschiedene Präparate auf einem Objectträger zur gemeinsamen Färbung.

Die Form der Bakterien (Länge, Dicke, Degenerationsformen) zeigte dieselbe Mannigfaltigkeit wie bei den anderweitigen, einfachen Färbungen.

Die Aufnahme des Farbstoffes durch die Bacillen war entweder eine totale, so dass der ganze Bakterienleib sich färbte, oder eine theilweise, so dass nur einzelne Segmente desselben imprägnirt erschienen.

Ausnahmslos in toto gefärbt waren die Bacillen von 6 Culturen (2a, 6a, 10a, 12, 13, 23b)
Ueberwiegend in toto gefärbt waren die Bacillen von 28 „ (1, 2b, 3, 4, 5, 7ab, 8b, 9a, 10b, 11, 14ab, 15ab, 16, 17, 18, 20b, 21, 22, 23a, 26b, 27ab, 28, 29, 30)
Theilweise in toto gefärbt waren die Bacillen von 1 Cultur (26a)
Ziemlich selten in toto gefärbt waren die Bacillen von 1 „ (20a)
Selten in toto gefärbt waren die Bacillen von . . . 5 Culturen (8a, 9b, 19, 24, 25)
Ausnahmslos segmentirt gefärbt waren die Bacillen von 1 Cultur (6b).

Dunkel gefärbte Polkörnchen in blasser gefärbten Bakterienleibern wurden öfters beobachtet.

Sie traten auf:

Zahlreich bei . . .	7	Culturen	(6a, 8a, 9b, 11, 19, 20a, 26b)
Ziemlich zahlreich in	1	Cultur	(9a)
Theilweise in . . .	10	Culturen	(14ab, 15ab, 18, 23, 25, 26b, 27a, 28)
Vereinzelt in . . .	7	„	(2b, 4, 5, 20b, 21, 22, 24)
Selten in.	3	„	(27b, 29, 30)
Sie fehlten in . . .	14	„	(1, 2a, 3, 6a, 7ab, 8b, 10ab, 12, 13, 16, 17, 23b).

Isolirte Polkörnchenfärbung, während die Bakterienleiber den Farbstoff abgaben, wurde in keinem Falle beobachtet. Stets war die überwiegende Mehrzahl der Bakterien sowohl in den a- als in den b-Culturen positiv nach Gram gefärbt. Zwischen den echten und den Pseudodiphtheriebacillen fand sich kein Unterschied.

Die näheren Einzelheiten s. Tabelle VIII.



Sie sind weder zur Unterscheidu[illegible] ... Neisser.
für die Trennung von Dip[illegible] ... schriften Neisser's vorge-
werthen, eine Beobac[illegible] ... Stunden bei 34·5° C. im Brüt-
Mittheilungen entsp[illegible] ... wurden je 6 bis 12 Präparate auf

... gefärbt.
... gefärbt:

Ueber d[illegible] ... 10ab, 14b, 16, 20b, 27a)

Die Gr[illegible] ... 4, 5b, 6b, 9ab, 14a, 15b, 17, 19, 20a, 23b, 24,
... (3, 5, 26b, 28)
Nährböde[illegible] ... 14 " ... 7ab, 25, 26a, 27b, 29, 30)
auch bei ... (6a, ...
dieselbe ... 8 " (1, 15a, 22, 23a)
Die P[illegible] ... häufig 4 " (2ab, 12)
ziem[illegible] ... 3 " (11, 13, [18], 21).
... sehr spärlich . 4 "
Fehlten . . . .

Sonach hat sich die Annahme, dass der Diphtheriebacillus stets, der Pseudodiphtheriebacillus niemals die Neisser'sche Polkörnchenfärbung zeige, nicht bestätigt. Denn die echte Diphtherie Nr. 21 zeigte im ersten Präparat keine, im zweiten sehr seltene Polkörnchen; die Pseudodiphtherie Nr. 17 zeigte jedes Mal, Nr. 18 bei der zweiten Untersuchung untrügliche, dunkelblau gefärbte Polkörnchen. Die Einzelheiten enthält Tabelle VIII.

Pathogenitätsprüfung.

Es wurden alle 42 Stämme auf ihre Pathogenität untersucht; indem ferner gleichzeitig Diphtheriebouillon mit Heilserum zusammen eingespritzt wurde, konnte die Einheitlichkeit der von den verschiedensten Erkrankungsfällen stammenden Culturen geprüft werden.

Zur Verwendung kamen junge Meerschweinchen von 250 bis 300 ^{grm} Gewicht; dieselben erhielten durchschnittlich je 0·5 ^{ccm} einer 2 bis 20 Tage alten Diphtheriebouillon subcutan injicirt. Zum Parallelversuch wurden der eingespritzten Bouillon 125 I.-E. Höchster Serum beigegeben.

Die Einzelnheiten der Versuche enthält Tabelle IX, auf welche wir besonders hinweisen.

Alle unsere Stämme, mit Ausnahme von Nr. 11, 13, 17 und 18, erwiesen sich (mehr oder weniger) als virulent. Am stärksten virulent waren 2a, 2b, 3, 4, 5, 6a, 8a, 14a, 20a, 20b, 23b, 27a und 27b, welche die Thiere in weniger als 24 Stunden tödteten. Bei allen Controlversuchen sind die Thiere gesund und am Leben geblieben, so dass das Heilserum in jedem Falle vor der Infection schützte. Wie schon Löffler hervorhob,[1] ist dies der absolut sichere Beweis, dass die betreffende Cultur wirklich Diphtheriebacillen enthält, denn es ist bisher kein einziger Mikroorganis-

[1] *Hygien. Congress.* Madrid 1898.



mus bekannt, der, allein injicirt, für Meerschweinchen pathogen ist und mit Diphtherieheilserum zusammen avirulent wird.

Diese hochvirulenten Culturen stammen alle, mit Ausnahme der Nr. 2, 20 und 23, von schweren Diphtheriefällen (siehe S. 182 ff.), 2 u. 20 von mittelschweren und 23 von einem Reconvalescenten.

Weniger virulent war 10b bei dem ersten Versuch (20 Tage alte am Licht und bei Zimmertemperatur gehaltene Bouilloncultur) 26a und 26b. Alle drei Culturen stammten von leichten Fällen. Ohne constant zu sein, scheint doch ein Zusammenhang zwischen der Schwere des klinischen Diphtheriefalles und der Virulenz bei Meerschweinchen zu bestehen. Wenn man bei dem zweiten Versuch eine nur 5 tägige Bouilloncultur brauchte, tödtete Nr. 10b das Thier in 23 Stunden, 26a (5 ccm von einer 6 tägigen Cultur auf Martin'scher Peptonbouillon) nach 40 Stunden und 26b in derselben Flüssigkeit nach 24 Stunden.

Virulenzunterschiede zwischen den a- und b-Culturen wurden nicht beobachtet. Nr. 7b verursachte nur Infiltration mit consecutiver Nekrose wenn eine 18 tägige Bouilloncultur benutzt wurde, dagegen den Tod des Thieres, wenn die Cultur nur 4 Tage alt war; dasselbe war mit 10b (bei der das erste Thier am 10. Tage gestorben ist, das zweite nach 23 Stunden), mit 12, 26a und 26b der Fall.

Sehr lehrreich ist die Cultur 12, welche von einem schweren klinischen Fall stammt. 5 Tage nach der Isolirung war sie ziemlich virulent: sie tödtete ein circa 250 grm schweres Meerschweinchen in 70 Stunden. Drei Monate später wuchs die Cultur sehr dürftig und war wenig lebenskräftig; nach mehreren Versuchen gelang es, eine Bouilloncultur zu bekommen, welche das Thier in 13 Tagen tödtete. Drei andere angestellte Versuche sind, selbst auf Martin'scher Bouillon, erfolglos geblieben. Es scheint darnach dieser Stamm eine Uebergangsform von den virulenten zu den avirulenten Diphtheriebacillen darzustellen.

Die Stämme 11, 13, 17 und 18 haben sich trotz wiederholter Versuche immer als avirulent erwiesen. Diese Eigenschaft im Verein mit dem abweichenden üppigeren Wachsthum auf Agar berechtigt zu der Annahme, dass es sich um avirulente Pseudodiphtheriestämme handelt.

Bezüglich des Martin'schen Nährboden sei erwähnt, dass derselbe aus seiner Inaugural-Dissertation[1] stammt. Wir haben ihn mit Erfolg benutzt bei Nr. 26a und 26b, ohne Erfolg bei 11, 13, 17 und 18, müssen aber hinzufügen, dass wir nicht ganz genau die Vorschrift von Martin innegehalten haben, da wir keinen bis 120° erwärmbaren Sterilisirungsapparat zur Verfügung hatten. Seine genauere Zusammensetzung siehe Anmerkung zu Tabelle IX.

[1] Production de la toxine diphtérique. *Thèse de Paris.* 1897.



Färbung nach Ernst-Neisser.

Dieselbe wurde nach den genauen Vorschriften Neisser's vorgenommen bei Serumculturen, welche 15 Stunden bei 34·5° C. im Brütschrank gestanden hatten; auch hier wurden je 6 bis 12 Präparate auf einem Objectträger gemeinsam gefärbt.

Es waren Polkörnchen isolirt gefärbt:

Sehr häufig . .	9 Mal	(4, 8ab, 10ab, 14b, 16, 20b, 27a)
Häufig . . .	14 „	(3, 5, 6b, 9ab, 14a, 15b, 17, 19, 20a, 23b, 24, 26b, 28)
Ziemlich häufig	8 „	(6a, 7ab, 25, 26a, 27b, 29, 30)
Spärlich . . .	4 „	(1, 15a, 22, 23a)
Sehr spärlich .	3 „	(2ab, 12)
Fehlten . . .	4 „	(11, 13, [18], 21).

Sonach hat sich die Annahme, dass der Diphtheriebacillus stets, der Pseudodiphtheriebacillus niemals die Neisser'sche Polkörnchenfärbung zeige, nicht bestätigt. Denn die echte Diphtherie Nr. 21 zeigte im ersten Präparat keine, im zweiten sehr seltene Polkörnchen; die Pseudodiphtherie Nr. 17 zeigte jedes Mal, Nr. 18 bei der zweiten Untersuchung untrügliche, dunkelblau gefärbte Polkörnchen. Die Einzelheiten enthält Tabelle VIII.

Pathogenitätsprüfung.

Es wurden alle 42 Stämme auf ihre Pathogenität untersucht; indem ferner gleichzeitig Diphtheriebouillon mit Heilserum zusammen eingespritzt wurde, konnte die Einheitlichkeit der von den verschiedensten Erkrankungsfällen stammenden Culturen geprüft werden.

Zur Verwendung kamen junge Meerschweinchen von 250 bis 300 ^{grm} Gewicht; dieselben erhielten durchschnittlich je 0·5 ^{ccm} einer 2 bis 20 Tage alten Diphtheriebouillon subcutan injicirt. Zum Parallelversuch wurden der eingespritzten Bouillon 125 I.-E. Höchster Serum beigegeben.

Die Einzelnheiten der Versuche enthält Tabelle IX, auf welche wir besonders hinweisen.

Alle unsere Stämme, mit Ausnahme von Nr. 11, 13, 17 und 18, erwiesen sich (mehr oder weniger) als virulent. Am stärksten virulent waren 2a, 2b, 3, 4, 5, 6a, 8a, 14a, 20a, 20b, 23b, 27a und 27b, welche die Thiere in weniger als 24 Stunden tödteten. Bei allen Controlversuchen sind die Thiere gesund und am Leben geblieben, so dass das Heilserum in jedem Falle vor der Infection schützte. Wie schon Löffler hervorhob,[1] ist dies der absolut sichere Beweis, dass die betreffende Cultur wirklich Diphtheriebacillen enthält, denn es ist bisher kein einziger Mikroorganis-

[1] *Hygien. Congress.* Madrid 1898.



mus bekannt, der, allein injicirt, für Meerschweinchen pathogen ist und mit Diphtherieheilserum zusammen avirulent wird.

Diese hochvirulenten Culturen stammen alle, mit Ausnahme der Nr. 2, 20 und 23, von schweren Diphtheriefällen (siehe S. 182ff.), 2 u. 20 von mittelschweren und 23 von einem Reconvalescenten.

Weniger virulent war 10b bei dem ersten Versuch (20 Tage alte am Licht und bei Zimmertemperatur gehaltene Bouilloncultur) 26a und 26b. Alle drei Culturen stammten von leichten Fällen. Ohne constant zu sein, scheint doch ein Zusammenhang zwischen der Schwere des klinischen Diphtheriefalles und der Virulenz bei Meerschweinchen zu bestehen. Wenn man bei dem zweiten Versuch eine nur 5tägige Bouilloncultur brauchte, tödtete Nr. 10b das Thier in 23 Stunden, 26a (5 ^{ccm} von einer 6tägigen Cultur auf Martin'scher Peptonbouillon) nach 40 Stunden und 26b in derselben Flüssigkeit nach 24 Stunden.

Virulenzunterschiede zwischen den a- und b-Culturen wurden nicht beobachtet. Nr. 7b verursachte nur Infiltration mit consecutiver Nekrose wenn eine 18tägige Bouilloncultur benutzt wurde, dagegen den Tod des Thieres, wenn die Cultur nur 4 Tage alt war; dasselbe war mit 10b (bei der das erste Thier am 10. Tage gestorben ist, das zweite nach 23 Stunden), mit 12, 26a und 26b der Fall.

Sehr lehrreich ist die Cultur 12, welche von einem schweren klinischen Fall stammt. 5 Tage nach der Isolirung war sie ziemlich virulent: sie tödtete ein circa 250 ^{grm} schweres Meerschweinchen in 70 Stunden. Drei Monate später wuchs die Cultur sehr dürftig und war wenig lebenskräftig; nach mehreren Versuchen gelang es, eine Bouilloncultur zu bekommen, welche das Thier in 13 Tagen tödtete. Drei andere angestellte Versuche sind, selbst auf Martin'scher Bouillon, erfolglos geblieben. Es scheint darnach dieser Stamm eine Uebergangsform von den virulenten zu den avirulenten Diphtheriebacillen darzustellen.

Die Stämme 11, 13, 17 und 18 haben sich trotz wiederholter Versuche immer als avirulent erwiesen. Diese Eigenschaft im Verein mit dem abweichenden üppigeren Wachsthum auf Agar berechtigt zu der Annahme, dass es sich um avirulente Pseudodiphtheriestämme handelt.

Bezüglich des Martin'schen Nährboden sei erwähnt, dass derselbe aus seiner Inaugural-Dissertation[1] stammt. Wir haben ihn mit Erfolg benutzt bei Nr. 26a und 26b, ohne Erfolg bei 11, 13, 17 und 18, müssen aber hinzufügen, dass wir nicht ganz genau die Vorschrift von Martin innegehalten haben, da wir keinen bis 120° erwärmbaren Sterilisirungsapparat zur Verfügung hatten. Seine genauere Zusammensetzung siehe Anmerkung zu Tabelle IX.

[1] Production de la toxine diphtérique. *Thèse de Paris.* 1897.



Resumé.

Von den 42 isolirten, aus sehr verschiedenartigen Krankheitsprocessen stammenden Diphtherieculturen haben sich 4 als Pseudodiphtherie erwiesen (11, 13, 17 und 18).

Die 38 echten Diphtherieculturen zeigen im Allgemeinen auf Blutserum, Glycerinagar, Gelatine und Kartoffel gleichmässiges Wachsthum.

Auf einfachem Agar hingegen zeigen sie verschiedene Entwickelungsformen: entweder es treten transparente, platte bezw. wenig erhabene, glanzlose Colonieen auf, oder es entwickeln sich undurchsichtige, grauweisse, erhabene, glänzende Culturen. Zwischen diesen beiden Formen bestehen zahlreiche Uebergänge, so dass aus dem gelegentlichen Wachsthum nach der einen oder anderen Richtung hin constante Differenzen sich nicht ergeben. Die Diphtheriebacillen wachsen im Allgemeinen desto üppiger auf Agar, je länger sie auf demselben gezüchtet werden.

Milch wird nicht coagulirt, auch nicht von den Pseudodiphtheriestämmen.

Auf Bouillon entsteht erst Trübung und Säuerung; später klärt sich die Bouillon und die Reaction wird alkalisch. Bröckel- und Membranbildung sind nicht constant. Pseudodiphtherieculturen zeigen gegen echte in Bouillon keine constanten Differenzen.

Die Virulenzprüfung ergab bei allen 38 Culturen ein positives Resultat. Gleichzeitiges Impfen von Diphtheriebouillon und Heilserum verhinderte bei allen Culturen gleichmässig Tod und Erkrankung. Die von den verschiedensten Krankheitsprocessen stammenden Diphtherieculturen verhielten sich im Thierversuch völlig einheitlich. Im Heilserum haben wir ein absolut sicheres diagnostisches und — wenigstens für Meerschweinchen — ein ebenso zuverlässig therapeutisch wirkendes Mittel gegen Diphtherie.

Interessant ist Cultur XII, welche, ursprünglich pathogen, ihre Virulenz im Laufe der Beobachtung verlor und trotz wiederholter Versuche nicht wiedererlangte.

Die mikroskopische Untersuchung ergab als einzig constantes Merkmal eine parallele oder in wirren Haufen mit Neigung zur parallelen Lagerung erfolgende Anordnung der Diphtherie- und Pseudodiphtherieculturen. Segmentirte Färbung und Degenerationsformen erwiesen sich bei beiden Arten (echte und pseudodiphtheritische) als nicht constant.

Die Gram'sche Färbung nahmen alle Culturen ohne Ausnahme an, die Ernst-Neisser'sche Färbung gab zwar werthvolle, aber nicht constante Differenzen zwischen Diphtherie- und Pseudodiphtherie. Die Diphtheriebacillen erwiesen sich stets als unbeweglich.

Die von Zupnik gefundenen Unterschiede zwischen den verschiedenen Diphtherieculturen in Wachsthum, Färbung und Virulenz haben wir bei unseren Diphtheriestämmen nicht bestätigen können.



Tabelle I. Agar.

Agar nach 24 Stunden am 16. IV.

Nr.	Grösse bis zu	Form	Aussehen	Condenswasser
1	2·0mm	eckige Ränder, platt	glanzlos, transparent	klar, Bodensatz [2]
2a	1·0 „	rund, erhaben	glänzend, „	trübe, bröckliger Bodensatz
2b	1·5 „	„ wenig erhaben	wenig glänzend, „	klar, Bodensatz
3	0·8 „	„ „ „	„ „ „	klar, bröckliger Bodensatz
4	0·8 „	„ „ „	„ „ grauweiss [1]	leicht trübe, Bodensatz
5	0·8 „	„ erhaben	glänzend, „	klar, bröckliger Bodensatz
6a	1·0 „	„ „	„ „	leicht trübe, Bodensatz
6b	1·0 „	„ wenig erhaben	wenig glänzend, „	„ „ „
7a	1·0 „	„ „ „	„ „ grau	„ „ „ [3]
7b	0·8 „	„ etwas erhaben	glänzend, grauweiss	klar, bröckliger Bodensatz
8a	1·0 „	„ mässig erhaben	wenig glänzend, „	leicht trübe, Bodensatz
8b	0·3 „	„ wenig erhaben	„ „ „	trübe, Bodensatz
9a	1·0 „	„ „ „	„ „ „	klar, bröckliger Bodensatz
9b	1·2 „	„ „ „	„ „ „	trübe, Bodensatz
10a	0·1 „	„ „ „	„ „ „	klar, „
10b	1·5 „	„ „ „	„ „ „	leicht trübe, „
11	1·0 „	„ erhaben	glänzend, „	trübe, „
12	0·1 „	„ wen. erh., fast platt	glanzlos, grauw., etw. transp.	klar, „ [3]
13	0·2 „	„ wenig erhaben	glänzend, grauweiss	„ „
14a	1·0 „	„ erhaben	„ „	trübe, „
14b	2·0 „	„ wenig erhaben	wenig glänzend, „	„ „
15a	1·5 „	„ „ „	glänzend, „	„ „
15b	1·0 „	„ „ „	wenig glänzend, „	„ „
16	0·5 „	„ „ „	„ „ „	leicht trübe, „
17	1·2 „	„ erhaben	glänzend, „	trübe, „
18	0·3 „	„ wenig erhaben	wenig glänzend, „	leicht trübe, „
19	0·2 „	„ „ „	„ „ „	„ „ „
20a	0·6 „	„ „ „	glanzlos, „	„ „ „
20b	0·1 „	„ „ „	wenig glänzend, transparent	klar, wenig Bodensatz
21	1·0 „	„ „ „	glänzend, grauweiss	leicht trübe, Bodensatz
22	1·0 „	„ „ „	„ „	„ „ „
23a	1·0 „	„ „ „	wenig glänzend, „	klar, bröckliger Bodensatz [3]
23b	0·3 „	„ „ „	„ „ „	„ „ „
24	1·0 „	„ „ „	„ „ „	leicht trübe, bröckl. Bodens.
25	1·0 „	„ „ „	glänzend, „	leicht trübe, Bodensatz
26a	1·0 „	„ „ „	wenig glänzend, „	klar, bröckliger Bodensatz
26b	1·0 „	„ „ „	„ „ „	„ „ „
27a	1·0 „	„ platt	„ „ „	klar, Bodensatz
27b	1·0 „	„ wenig erhaben	„ „ „	klar, bröckliger Bodensatz
28	1·0 „	„ „ „	glänzend, „	leicht trübe, Bodensatz
29	0·1 „	„ „ „	glanzlos, „	„ „ „
30	0·8 „	„ „ „	glänzend, „	„ „ „

[1] Die grauweissen Colonieen waren alle undurchsichtig.
[2] Deutliche Nabelbildung. [3] Nabelbildung.

Tabelle I. (Fortsetzung.) Agar nach 3 Tagen am 18. IV.

Nr.	Grösse bis zu	Form	Aussehen	Bemerkungen
1	3·0mm	wenig erhaben	glänzend	Contouren zackig. Colonieen undurchsichtig.
2a	2·0 „	erhaben	„	
2b	2·0 „ 1·5 „	wenig erhaben erhaben	wenig glänz., transpar. glänz., undurchsichtig	es haben sich zwei verschiedene Arten entwickelt.
3	4·0 „	„	„ „	
4	0·8 „ 1·5 „	wenig erhaben erhaben	wenig glänzend glänzend	es haben sich zwei verschiedene Arten entwickelt.
5	2·0 „	„	„	
6a	1·0 „	„	„	
6b	2·0 „	wenig erhaben	wenig glänzend	
7a	1·5 „	„ „	„ „	
7b	1·0 „	„ „	„ „	
8a	2·0 „	erhaben	glänzend	
8b	0·8 „ 1·0 „	wenig erhaben erhaben	wenig glänzend glänzend	es haben sich zwei verschiedene Arten entwickelt.
9a	1·5 „	„	„	
9b	1·0 „	wenig erhaben	wenig glänzend	
10a	3·0 „	erhaben	glänzend	
10b	3·0 „	wenig erhaben	wenig glänzend	
11	2·0 „	erhaben	glänzend	
12	1·0 „	wenig erhaben	„	
13	1·5 „	erhaben	„	
14a	1·5 „	„	„	
14b	4·0 „	„	„	
15a	2·0 „	„	„	
15b	2·0 „	wenig erhaben	„	
16	1·0 „	erhaben	„	
17	2·0 „	„	„	
18	1·0 „	„	„	
19	1·0 „	wenig erhaben	„	
20a	1·0 „	„ „	wenig glänzend	b zeigt etwas mehr Glanz wie a.
20b	0·3 „	„ „	„ „	
21	1·5 „	erhaben	glänzend	
22	1·0 „	„	„	
23a	1·5 „	„	„	
23b	0·8 „	wenig erhaben	wenig glänzend	
24	2·0 „	erhaben	glänzend	
25	2·0 „	„	„	
26a	2·5 „	„	„	
26b	2·0 „	wenig erhaben	„	
27a	2·0 „	„ „	„	
27b	1·5 „	„ „	wenig glänzend	
28	1·0 „	erhaben	glänzend	
29	0·2 „ 1·0 „	wenig erhaben erhaben	glanzlos glänzend	es haben sich zwei verschiedene Arten entwickelt.
30	1·0 „	wenig erhaben	„	

Tabelle I. (Fortsetzung.) Agar nach 6 Tagen am 21. IV.

Nr.	Grösse bis zu	Form	Aussehen	Bemerkungen
1	4·0 mm	erhaben	glänzend	
2a	2·0 „	„	„	
2b	4·0 „	„	„	einzelne Colonieen noch glanzlos.
3	6·0 „	„	„	
4	1·5 „	„	„	nur eine Art noch vorhanden.
5	2·0 „	„	„	
6a	1·0 „	„	„	
6b	2·0 „	wenig erhaben	wenig glänzend	
7a	3·0 „	„ „	„ „	das glänzende Aussehen der Colonieen, auch vorher nicht sehr stark, ist verloren gegangen.
7b	1·5 „	„ „	„ „	
8a	2·5 „	erhaben	glänzend	
8b	0·8 „ 1·0 „	wenig erhaben erhaben	wenig glänzend glänzend	Zahl der glänzenden Colonieen hat zugenommen.
9a	4·0 „	„	„	eckige Cont., confluirte Colon. (?)
9b	1·0 „	wenig erhaben	wenig glänzend	
10a	4·0 „	erhaben	glänzend	
10b	3·0 „	wenig erhaben	wenig glänzend	
11	3·0 „	erhaben	glänzend	
12	2·0 „	wenig erhaben	„	Colonieen werden etwas üppiger.
13	2·5 „	erhaben	„	
14a	2·0 „	„	„	
14b	4·0 „	„	„	
15a	2·5 „	sehr erhaben	„	
15b	2·0 „	wenig erhaben	„	
16	2·5 „	erhaben	„	
17	2·0 „	„	„	
18	1·0 „	„	„	meist confluirt.
19	1·0 „ 1·0 „	wenig erhaben erhaben	wenig glänzend glänzend	es haben sich zwei verschiedene Arten entwickelt.
20a	1·5 „	wenig erhaben	wenig glänzend	
20b	0·8 „	„ „	„ „	
21	2·0 „	erhaben	glänzend	
22	1·0 „	„	„	meist confluirt.
23a	2·0 „	„	„	
23b	1·0 „	wenig erhaben	wenig glänzend	
24	2·0 „	erhaben	glänzend	
25	3·0 „	„	„	
26a	3·0 „	„	„	
26b	2·5 „	wenig erhaben	„	
27a	3·0 „	„ „	„	
27b	2·0 „ 2·5 „	„ „ erhaben	wenig glänzend glänzend	es haben sich zwei verschiedene Arten entwickelt.
28	1·5 „	„	„	
29	0·6 „ 1·5 „	wenig erhaben erhaben	glanzlos glänzend	
30	1·5 „	„	„	

Tabelle I. (Fortsetzung.) Agar nach 9 Tagen am 24. IV.

Nr.	Grösse bis zu	Form	Aussehen	Bemerkungen
1	4·0mm	erhaben	glänzend	ist üppig geworden.
2a	2·0 „	„	„	
2b	4·0 „	„	„	nur einzelne Col. noch glanzlos.
3	6·0 „	„	„	
4	2·0 „	„	„	alle Col. jetzt glänzend geworden.
5	3·0 „	„	„	confluirt.
6a	1·5 „	„	„	
6b	2·0 „	wenig erhaben	wenig glänzend	
7a	3·0 „	„ „	„ „	
7b	2·0 „	„ „	„ „	
8a	2·5 „	erhaben	glänzend	
8b {	0·8 „ 1·5 „	wenig erhaben erhaben	wenig glänzend glänzend	
9a	4·0 „	„	„	
9b {	0·8 „ 1·5 „	wenig erhaben erhaben	wenig glänzend glänzend	} es haben sich zwei verschiedene Arten entwickelt.
10a	4·0 „	„	„	
10b	3·0 „	wenig erhaben	wenig glänzend	
11	3·0 „	erhaben	glänzend	
12	2·0 „	wenig erhaben	„	
13	3·0 „	erhaben	„	
14a	2·0 „	„	„	
14b	4·0 „	„	„	
15a	3·0 „	sehr erhaben	„	
15b	2·0 „	wenig erhaben	wenig glänzend	
16	3·0 „	erhaben	glänzend	
17	2·5 „	„	„	
18	2·0 „	„	„	confluirt.
19 {	1·0 „ 1·5 „	wenig erhaben erhaben	wenig glänzend glänzend	
20a	1·0 „	wenig erhaben	wenig glänzend	} Aussehen beider Stämme gleich.
20b	1·0 „	„ „	„ „	
21	2·0 „	erhaben	glänzend	
22	1·5 „	„	„	confluirt.
23a	2·0 „	„	„	
23b	1·5 „	wenig erhaben	wenig glänzend	
24	3·0 „	erhaben	glänzend	
25	4·0 „	„	„	
26a	3·0 „	„	„	
26b	3·0 „	wenig erhaben	wenig glänzend	
27a	3·0 „	„ „	„ „	
27b {	2·0 „ 2·5 „	„ „ erhaben	„ „ glänzend	
28	1·5 „	„	„	
29 {	0·8 „ 2·0 „	wenig erhaben erhaben	wenig glänzend glänzend	
30	2·0 „	„	„	

Tabelle I. (Fortsetzung.) Agar nach 20 Tagen.

Nr.	Grösse bis zu	Form	Aussehen	Bemerkungen
1	4·0 mm	erhaben	glänzend	
2a	2·0 „	„	„	
2b	5·0 „	„	„	alle Colonieen glänzend.
3	6·0 „	„	„	
4	2·0 „	„	„	
5	3·0 „	„	„	
6a	2·0 „	„	„	
6b	3·0 „	wenig erhaben	wenig glänzend	Centrum höher als Peripherie.
7a	3·0 „	„ „	„ „	
7b	3·0 „	„ „	„ „	
8a	2·5 „	erhaben	glänzend	
8b {	0·8 „	wenig erhaben	wenig glänzend	
	1·5 „	erhaben	glänzend	
9a	4·0 „	„	„	
9b	1·5 „	„	„	fast nur glänz. Col. vorhanden.
10a	4·0 „	„	„	
10b {	1·5 „	wenig erhaben	wenig glänzend	es haben sich zwei verschiedene
	2·5 „	erhaben	glänzend	Arten entwickelt.
11	2·5 „	„	feuchtglänzend	
12	2·5 „	wenig erhaben	glänzend	
13	3·0 „	erhaben	feuchtglänzend	
14a	2·0 „	„	glänzend	
14b	4·0 „	„	„	
15a	3·0 „	„	„	
15b	2·5 „	wenig erhaben	wenig glänzend	
16	4·0 „	erhaben	glänzend	zum Theil confluirt.
17	2·5 „	„	feuchtglänzend	
18	?	„	glänzend	confluirt.
19	1·5 „	„	„	Zahl d. glänz. Col. hat zugenommen.
20a	1·0 „	wenig erhaben	wenig glänzend	
20b	1·5 „	„ „	„ „	
21	2·0 „	erhaben	glänzend	
22	1·5 „	„	„	
23a	2·0 „	„	„	
23b	1·5 „	wenig erhaben	wenig glänzend	
24	3·0 „	erhaben	glänzend	
25	4·0 „	„	„	
26a	4·0 „	„	„	
26b	3·0 „	wenig erhaben	wenig glänzend	
27a	3·0 „	„ „	„ „	
27b {	2·0 „	fast platt	„ „	
	3·0 „	erhaben	glänzend	
28	2·0 „	„	„	
29 {	0·8 „	wenig erhaben	wenig glänzend	
	2·0 „	erhaben	glänzend	
30	2·0 „	„	„	

Tabelle I. (Fortsetzung.) Agar nach 30 Tagen am 5. V.

Nr.	Grösse bis zu	Form	Aussehen	Bemerkungen
1	4·0 mm	erhaben	glänzend	eckige Contouren.
2a	3·0 „	„	„	
2b	5·0 „	„	„	alle Colonieen transformirt.
3	6·0 „	„	„	Rand leicht gezackt.
4	2·0 „	„	„	Colonieen mehr grau, daher Glanz nicht sehr intensiv.
5	3·0 „	„	„	grauweiss.
6a	2·0 „	„	„	= 4.
6b	3·0 „	wenig erhaben	wenig glänzend	Centrum steht höher als die Periph.
7a	3·0 „	„ „	„ „	= 6b.
7b	3·0 „	„ „	„ „	= 6b.
8a	4·0 „	erhaben	glänzend	= 4.
8b	1·0 „ 2·0 „	wenig erhaben erhaben	wenig glänzend glänzend	grau. grauweiss.
9a	6·0 „	„	„	„
9b	2·0 „	„	„	„
10a	4·0 „	„	„	„
10b	1·5 „ 2·5 „	wenig erhaben erhaben	wenig glänzend glänzend	grau. grauweiss.
11	2·5 „	„	feuchtglänzend	weissgrau.
12	2·5 „	wenig erhaben	glänzend	grauweiss.
13	3·0 „	erhaben	feuchtglänzend	weissgrau.
14a	2·0 „	„	glänzend	grauweiss.
14b	4·0 „	„	„	„
15a	4·0 „	„	„	„
15b	3·0 „	wenig erhaben	wenig glänzend	grau; zeigt erst später einzelne glänzende, erhabene Colonieen.
16	4·0 „	erhaben	glänzend	grauweiss.
17	3·0 „	„	feuchtglänzend	weissgrau.
18	?	„	glänzend	weissgrau, sieht verwaschen aus.
19	2·0 „	„	„	grauweiss.
20a	2·0 „	wenig erhaben	wenig glänzend	mehrere Col. erhab., glänz., grauw.
20b	1·5 „	„ „	„ „	= 20a.
21	2·0 „	erhaben	glänzend	grauweiss.
22	2·0 „	„	„	„
23a	2·0 „	„	„	„
23b	1·5 „	wenig erhaben	wenig glänzend	grau.
24	3·0 „	erhaben	glänzend	grauweiss.
25	4·0 „	„	„	„
26a	4·0 „	„	„	„
26b	1·0 „ 3·0 „	„ wenig erhaben	„ wenig glänzend	„ grau, eckige Contouren.
27a	4·0 „	„ „	„ „	
27b	2·0 „ 3·0 „	„ „ erhaben	„ „ glänzend	grau. grauweiss.
28	2·0 „	„	„	„
29	0·8 „ 3·0 „	wenig erhaben erhaben	wenig glänzend glänzend	grau. grauweiss.
30	2·0 „	„	„	„

Tabelle II. **Glycerinagar.**

Glycerinagar nach 48 Stunden.

Nr.	Grösse bis zu	Form	Aussehen	Condenswasser
1	1·0 mm	rund	grau, wenig glänzend, platt, z. Th. confluirend	trübe, Bodensatz
2a	3·0 „	zackig	„ „ „ „ transparent	klar,
2b	1·0 „	rund	„ „ „ „ „	„ „ [1]
3	1·0 „	„	„ „ „ „ „	klar, bröckliger Bodensatz
4	1·5 „	„	„ matt, „ „	klar, Bodensatz [2]
5	1·5 „	„	„ „ „ „	„ „ [2]
6a	1·5 „	„	„ wenig glänzend, „	„ „ [3]
6b	1·0 „	„	„ „ „ „	„ „ [3]
7a	2·0 „	„	„ matt, „ „	klar, bröckliger Bodensatz [3]
7b	3·0 „	„	„ „ „ „	„ „ „ [3]
8a	1·0 „	„	„ „ wenig erhaben	„ „ „ [1]
8b	1·0 „	„	„ „ „ „	„ „ „ [1]
9a	1·0 „	„	„ glänzend, erhaben	„ „ „
9b	1·5 „	„	„ glanzlos, platt	„ „ „
10a	1·0 „	„	„ wenig glänzend, „ transparent	„ „ „ [1]
10b	2·0 „	„	„ glanzlos, „ „	klar, wenig Bodensatz [1]
11	1·0 „	„	„ feuchtglänzend, erhaben, undurchsicht.	trübe, reichl. Bodensatz [1]
12	0·2 „	„	„ wenig glänz., wenig erh., durchsichtig	klar
13	1·5 „	„	„ feuchtglänzend, erhaben, undurchsicht.	trübe, reichl. Bodensatz [1]
14a	1·0 „	„	„ glanzlos, platt, transparent	klar, Bodensatz
14b	1·0 „	„	„ „ „ „	„ „
15	1·0 „	„	„ „ „ „	klar, bröckliger Bodensatz
16	1·5 „	„	„ „ „ „	klar, Bodensatz [2]
17	1·0 „	„	„ feuchtglänzend, erhaben, undurchsicht.	trübe, reichl. Bodensatz [1]
18	1·5 „	„	„ „ „ „	„ „ „ [1]
19	1·5 „	„	„ glanzlos, platt, transparent	klar, bröckliger Bodensatz [2]
20a	0·3 „	„	„ „ „ „	klar, wenig Bodensatz
20b	1·0 „	„	„ wenig glänz., wenig erh., „	„ „ „ [2]
21	1·0 „	„	„ „ „ „ „ „	klar, bröckliger Bodensatz [1]
22	0·2 „	„	„ glanzlos, platt, „	klar, Bodensatz [1]
23a	0·1 „	„	„ „ „ „	„ „
23b	0·2 „	„	„ wenig glänz., wenig erh., „	klar, bröckliger Bodensatz
24	0·1 „	„	„ matt, platt, „	klar, Bodensatz [1]
25	1·0 „	„	„ wenig glänz., erhaben, undurchsicht.	trübe, „
26a	0·6 „	„	„ „ „ wenig erh., „	„ „
26b	0·6 „	„	„ glanzlos, „ „ tansparent	klar, bröckliger Bodensatz
27a	1·0 „	„	„ wenig glänz., wenig erh., „	klar, wenig Bodensatz
27b	0·8 „	„	„ glanzlos, platt, undurchsicht.	klar, bröckliger Bodensatz [1]
28	1·0 „	„	„ „ „ durchsichtig	„ „ „
29	1·2 „	„	„ wenig glänz., wenig erh., undurchsicht.	leicht trübe, bröckl. Bodens.
30	0·6 „	„	„ „ „ leicht „ „	„ „ „ „

[1] Zum Theil confluirend. [2] Zum Theil confluirend, Nabelbildung

[3] Nabelbildung.

[4] Zum Theil confluirend, Colonieen sehr verschieden in der Entwickelung.

Tabelle II. (Fortsetzung.)

Glycerinagar nach 6 Tagen.

Nr.	Grösse bis zu	Form	Aussehen	Bemerkungen
1	1·5 mm	rund	unverändert	
2a	3·5 „	zackig	„	
2b	1·2 „	rund	„	
3	1·0 „	„	„	
4	2·0 „	„	„	
5	2·0 „	„	„	
6a	1·5 „	„	„	
6b	1·0 „	„	„	
7a	2·0 „	zackig	„	zackige Ränder, durch Confluiren entstanden.
7b	3·0 „	„	„	zackige Ränder, durch Confluiren entstanden.
8a	2·0 „	rund	„	
8b	2·0 „	„	„	
9a	2·5 „	„	„	
9b	3·5 „	„	„	
10a	1·0 „	„	„	
10b	2·0 „	„	„	
11	2·0 „	„	„	
12	0·6 „	„	„	
13	1·5 „	„	„	
14a	1·0 „	„	„	deutliche Nabelbildung.
14b	1·0 „	„	„	
15	1·0 „	„	„	
16	3·0 „	„	„	
17	1·0 „	„	„	
18	1·5 „	„	„	
19	2·0 „	„	„	
20a	0·5 „	„	„	
20b	1·0 „	„	„	Nabelbildung.
21	1·0 „	„	„	
22	1·5 „	„	„	zum Theil confluirend.
23a	1·0 „	„	„	Nabelbildung.
23b	1·0 „	„	„	
24	1·0 „	„	„	
25	1·5 „	„	„	
26a	2·0 „	zackig	„	Nabelbildung.
26b	3·0 „	„	„	
27a	3·0 „	„	„	
27b	0·9 „	„	„	
28	4·0 „	„	„	
29	2·0 „	„	„	Nabelbildung.
30	0·8 „	rund	„	

Tabelle II. (Fortsetzung.)

Glycerinagar nach 10 Tagen.

Nr.	Grösse bis zu	Form	Aussehen		Bemerkungen
1	1·5 mm	rund	platt,	wenig glänzend	confluirt.
2a	3·0 „	zackig	„	„ „	„
2b	1·5 „	rund	„	„ „	„
3	1·0 „	„	„	glanzlos	
4	3·0 „	„	„	„	
5	3·0 „	„	„	„	
6a	2·0 „	„	„	„	
6b	1·0 „	„	„	„	
7a	3·0 „	„	„	„	„
7b	5·0 „	zackig	„	wenig glänzend	
8a	4·0 „	rund	„	glanzlos	zum Theil confluirend.
8b	3·0 „	„	„	„	
9a	3·0 „	„	wenig erhaben,	wenig glänzend	Nabelbildung.
9b	5·0 „	„	platt,	glanzlos	
10a	1·0 „	„	wenig erhaben,	wenig glänzend	
10b	2·0 „	„	platt,	glanzlos	confluirt.
11	4·0 „	„	erhaben,	feuchtglänzend	„
12	1·5 „	„	wenig erhaben,	wenig glänzend	Nabelbildung.
13	1·5 „	„	erhaben,	feuchtglänzend	Verschiedenheiten in der Entwickelung der Colonieen verwischt.
14a	1·0 „	„	platt,	glanzlos	
14b	1·0 „	„	„	„	
15	1·0 „	„	„	„	z. T. confluirend, Nabelbldg.
16	3·0 „	„	„	„	„ „
17	1·0 „	„	sehr erhaben,	feuchtglänzend	„
18	1·5 „	„	erhaben,	„	„
19	3·0 „	„	platt,	glanzlos	„ „
20a	0·8 „	„	„	„	„
20b	1·5 „	„	etwas erhaben,	wenig glänzend	„ „
21	1·5 „	„	„ „	„ „	„
22	1·5 „	„	platt,	glanzlos	„
23a	1·8 „	„	„	„	„ „
23b	2.5 „	zackig	„	„	nicht confluirend.
24	2·0 „	rund	„	„	zum Theil confluirend.
25	3·0 „	„	erhaben,	glänzend	
26a	3·0 „	zackig	platt,	glanzlos	
26b	3·0 „	„	etwas erhaben,	wenig glänzend	
27a	3·0 „	„	platt,	„ „	
27b	1·5 „	„	„	„ „	
28	4·0 „	„	wenig erhaben,	„ „	
29	2·0 „	„	„ „	„ „	
30	1·0 „	rund	„ „	„ „	

Tabelle II. (Fortsetzung.)

Glycerinagar nach 25 Tagen.

Nr.	Grösse bis zu	Form	Aussehen	Bemerkungen
1	2·0mm	rund	wenig glänz., platt, undurchsicht.	confluirt.
2a	3·0 „	unregelmäss. rund	„ „ „	„
2b	2·0 „	rund	„ „ „ „	„
3	2·0 „	„	glanzlos, „ „	„
4	5·0 „	„	wenig glänz., „ „	„
5	3·0 „	„	„ „ „ „	„
6a	2·0 „	„	„ „ „ „	„
6b	4·0 „	„	„ „ „ „	„
7a	4·0 „	„	„ „ „ „	„
7b	5·0 „	„	„ „ „ „	„
8a	4·0 „	„	„ „ „ „	„
8b	4·0 „	„	„ „ „ „	„
9a	3·0 „	eckig	„ „ wenig erh., „	Nabelbildung.
9b	5·0 „	rund	glanzlos, platt, „	
10a	2·0 „	„	wenig glänz., wen. erh., „	confluirt.
10b	3·0 „	„	glanzlos, platt, „	„
11	4·0 „	„	feuchtglänz., sehr erh., „	„ Wachsth. sehr üppig.
12	2·0 „	„	wenig glänz., wen. erh., „	
13	1·5 „	„	feuchtglänz., erhaben, „	
14a	2·0 „	„	wenig glänz., platt, „	
14b	2·0 „	„	„ „ „ „	
15	2·0 „	„	glanzlos, „ „	
16	6·0 „	„	wenig glänz., „ „	
17	1·5 „	„	feuchtglänz., sehr erh., „	z. Th. confluirend.
18	2·0 „	„	„ erhaben, „	„ „
19	3·0 „	„	glanzlos, platt, transparent	„ „
20a	0·8 „	„	„ „ „	„ „
20b	3·0 „	„	wenig glänz., etwas erh., „	„ „ Nabelbildung.
21	1·5 „	„	„ „ „ „ „	„ „
22	2·0 „	„	glanzlos, platt, „	„ „
23a	1·5 „	„	„ etwas erh., „	„ „ Centrum höher als Peripherie.
23b	4·0 „	zackig	„ platt, „	nicht confluirend.
24	3·0 „	rund	wenig glänz., „ „	z. Th. confluirend.
25	3·0 „	„	glänzend, erhaben, undurchsicht.	
26a	5·0 „	zackig	„ wenig erh., „	
26b	4·0 „	„	wenig glänz., „ „ „	Peripherie u. Centr. platt. dazwischen eine erhabene Zone: Cocardenförmig.
27a	5·0 „	„	„ „ platt, „	
27b	3·0 „	„	glanzlos, wenig erh., „	
28	5·0 „	„	wenig glänz., „ „ „	= 26 b.
29	2·0 „	„	„ „ „ „ „	Nabelbildung.
30	2·0 „	rund	„ „ „ „ „	

Tabelle III. **Blutserum.**

Blutserum nach 24 Stunden.

Nr.	Grösse bis zu	Form		Aussehen		Condenswasser		
1	2·0 mm	rund,	erhaben	grauweiss,	glänzend	trübe,		Bodensatz
2a	1·5 „	„	„	„	„	leicht trübe		„
2b	1·5 „	„	„	„	„	„	„	„
3	1·0 „	„	„	„	„	„	„	„
4	2·0 „	„	„	„	„	„	„	„
5	2·0 „	„	„	„	„	„	„	„
6a	2·0 „	„	„	„	„	„	„	„
6b	1·5 „	„	„	„	„	„	„	„
7a	3·0 „	„	„	„	„	„	„	„
7b	1·5 „	„	„	„	„	„	„	„
8a	4·0 „	„	„	„	„	„	„	„
8b	3·0 „	„	„	„	„	„	„	„
9a	3·0 „	„	„	„	„	„	„	„
9b	3·0 „	„	„	„	„	„	„	„
10a	2·0 „	„	„	„	„	„	„	„
10b	2·0 „	„	„	„	„	„	„	„
11	3·0 „	„	„	„	„	„	„	„
12	0.5 „	„	„	„	„	„	„	„
13	1·5 „	„	„	„	„	„	„	„
14a	2·0 „	„	„	„	„	„	„	„
14b	2·0 „	„	„	„	„	„	„	„
15a	1·5 „	„	„	„	„	„	„	„
15b	2·0 „	„	„	„	„	„	„	„
16	2·0 „	„	„	„	„	„	„	„
17	3·0 „	„	„	„	„	„	„	„
18	2·0 „	„	„	„	„	„	„	„
19	2·0 „	„	„	„	„	„	„	„
20a	2·0 „	„	„	„	„	„	„	„
20b	2·0 „	„	„	„	„	„	„	„
21	1·5 „	„	„	„	„	„	„	„
22	3·0 „	„	„	„	„	„	„	„
23a	2·0 „	„	„	„	„	„	„	„
23b	3·0 „	„	„	„	„	„	„	„
24	1·5 „	„	„	„	„	„	„	„
25	2·0 „	„	„	„	„	„	„	„
26a	2·0 „	„	„	„	„	„	„	„
26b	1·0 „	„	„	„	„	„	„	„
27a	2·0 „	„	„	„	„	„	„	„
27b	3·0 „	„	„	„	„	„	„	„
28	1·5 „	„	„	„	„	„	„	„
29	1·5 „	„	„	„	„	„	„	„
30	2·0 „	„	„	„	„	„	„	„

Tabelle III. (Fortsetzung.)

Blutserum nach 9 Tagen.

Nr.	Grösse bis zu	Form	Aussehen	Bemerkungen
1	3·0 mm	rund	grauweiss	glänzend.
2a	3·0 „	„	„	„
2b	8·0 „	„	graugelblich	„
3	5·0 „	„	„	wenig glänzend.
4	4·0 „	„	grauweiss	glänzend.
5	5·0 „	„	graugelblich	„
6a	2·0 „	„	„	„
6b	2·0 „	„	grauweiss	wenig glänzend.
7a	3·0 „	„	„	glänzend.
7b	3·0 „	„	„	„
8a	5·0 „	„	„	„
8b	4·0 „	„	„	„
9a	4·0 „	„	gelblich	„
9b	5·0 „	„	graugelblich	„
10a	4·0 „	„	grauweiss	„
10b	4·0 „	„	„	„
11	4·0 „	„	„	„
12	1·0 „	„	„	„
13	3·0 „	„	„	„
14a	2·0 „	„	„	„
14b	4·0 „	„	„	„
15a	1·5 „	„	„	„
15b	3·0 „	„	„	„
16	8·0 „	„	„	„
17	6·0 „	„	„	„ wenig erhaben.
18	2·0 „	„	„	„ „ „
19	3·0 „	„	„	„
20a	4·0 „	„	„	„
20b	1·5 „	„	„	„
21	3·0 „	„	„	„
22	5·0 „	„	„	„
23a	3·0 „	„	„	„
23b	3·0 „	„	„	„
24	3·0 „	„	„	„
25	2·0 „	„	„	„
26a	3·0 „	„	„	„
26b	1·5 „	„	„	„
27a	2·0 „	„	„	„
27b	4·0 „	„	„	„
28	1·5 „	„	„	„
29	1·0 „	„	„	„
30	1·5 „	„	gelblich	„

Tabelle III. (Fortsetzung.)

Blutserum nach 20 Tagen.

Nr.	Grösse bis zu	Form	Aussehen	Bemerkungen
1	3·0mm	rund	grauweiss	glänzend.
2a	3·0 ,,	,,	,,	,,
2b	3·0 ,,	,,	gelblich	,,
3	5·0 ,,	,,	,,	wenig glänz. } beginnende Eintrocknung.
4	5·0 ,,	,,	grauweiss	,, ,,
5	6·0 ,,	,,	gelblich	,, ,,
6a	3·0 ,,	,,	,,	glänzend.
6b	2·0 ,,	,,	grauweiss	wenig glänzend.
7a	4·0 ,,	unregelmässig	,,	glänzend.
7b	4·0 ,,	rund	,,	,,
8a	5·0 ,,	,,	etwas gelblich	,,
8b	5·0 ,,	,,	grauweiss	glanzlos (eingetrocknet).
9a	6·0 ,,	,,	gelblich	,, ,,
9b	7·0 ,,	,,	,,	glänzend.
10a	5·0 ,,	,,	grauweiss	,,
10b	5·0 ,,	,,	,,	,,
11	5·0 ,,	,,	,,	,,
12	1·0 ,,	,,	,,	,,
13	3·0 ,,	,,	,,	,,
14a	3·0 ,,	,,	,,	,,
14b	5·0 ,,	,,	,,	wenig glänz. ,,
15a	1·5 ,,	,, meist confluirend	,,	,, ,, ,,
15b	5·0 ,,	rund	,,	,, ,, ,,
16	3·0 ,,	,,	,,	glänzend.
17	7·0 ,,	,,	,,	,, wenig erhaben.
18	2·0 ,,	,, meist confluirend	,,	,,
19	3·0 ,,	rund	,,	glanzlos (eingetrocknet).
20a	5·0 ,,	,,	gelblich	glänzend.
20b	1·5 ,,	,,	grauweiss	wenig glänz. ,,
21	4·0 ,,	,,	,,	glänzend.
22	6·0 ,,	,,	gelblich	,,
23a	4·0 ,,	,,	,,	,,
23b	4·0 ,,	unregelmässig	graugelblich	wenig glänz. ,,
24	3·0 ,,	rund	,,	,, ,, ,,
25	2·0 ,,	,,	,,	glänzend.
26a	3·0 ,,	,,	grauweiss	,,
26b	2·0 ,,	,,	,,	,,
27a	3·0 ,,	,,	,,	glanzlos ,,
27b	5·0 ,,	,,	graugelblich	glänzend.
28	2·0 ,,	,,	grauweiss	glanzlos ,,
29	1·5 ,,	,,	,,	,, ,,
30	2·0 ,,	,,	graugelblich	,, ,,

Tabelle III. (Fortsetzung.)

Blutserum nach 30 Tagen.

Nr.	Grösse bis zu	Form	Aussehen	Bemerkungen
1	3·0 mm	rund	grauweiss	glänzend, trocknet ein.
2a	3·0 „	„	„	„ „ „
2b	3·0 „	„	gelblich	„ „ „
3	5·0 „	„	„	„ „ „
4	5·0 „	„	grauweiss	glanzlos, eingetrocknet.
5	6·0 „	„	leicht gelblich	„ „
6a	3·0 „	„	grauweiss	„ trocknet ein.
6b	2·0 „	„	„	wenig glänzend, „ „
7a	4·0 „	unregelmässig	graugelblich	glänzend, „ „
7b	5·0 „	rund	grauweiss	„ „ „
8a	5·0 „	„	graugelblich	wenig glänzend, „ „
8b	5·0 „	„	grauweiss	glanzlos, trocken.
9a	6·0 „	„	graugelblich	wenig glänz., trocknet ein.
9b	7·0 „	„	stark gelblich	glänzend, „ „
10a	5·0 „	„	grauweiss	„ „ „
10b	5·0 „	„	{1 Col. gelblich, übrige grauweiss}	„ „ „
11	5·0 „	„	grauweiss	fettig glänzend, „ „
12	1·0 „	„	„	glänzend, „ „
13	3·0 „	„	„	{coliähnl. Aussehen bez. Farbe u. Glanz} „ „
14a	3·0 „	„	„	glänzend, „ „
14b	5·0 „	„	„	„ „ „
15a	2·0 „	„	„	„ „ „
15b	5·0 „	„	„	„ „ „
16	3·0 „	„	„	„ „ „
17	7·0 „	„	„	= Nr. 13, „ „
18	3·0 „	„	„	= Nr. 13, „ „
19	4·0 „	„	„	glanzlos, trocken.
20a	5·0 „	„	„	glänzend, trocknet ein.
20b	1·5 „	„	„	„ „ „
21	4·0 „	„	„	„ „ „
22	6·0 „	„	graugelblich	„ „ „
23a	4·0 „	„	„	„ „ „
23b	4·0 „	unregelmässig	„	„ „ „
24	3·0 „	rund	„	„ „ „
25	3·0 „	„	„	wenig glänzend, „ „
26a	3·0 „	„	grauweiss	„ „ trocken.
26b	2·5 „	„	„	glänzend, wenig trocken.
27a	3·0 „	„	„	glanzlos, trocken.
27b	5·0 „	„	graugelblich	glänzend, trocknet ein.
28	2·0 „	„	grauweiss	wenig glänzend, trocken.
29	2·0 „	„	„	glanzlos, „
30	2·0 „	„	graugelblich	wenig glänzend, „

Tabelle IV. **Gelatine.**

Gelatine nach 48 Stunden.

Nr.	Strich				Stich
	Grösse	Form	Höhe	Aussehen	
1	zart	rund	wenig erhaben	transparent	sehr zart.
2a	sehr zart	„	„ „	„	sehr kleine Colonieen.
2b	„ „	„	„ „	„	kaum sichtbar.
3	„ „	„	„ „	„	„ „
4	„ „	„	„ „	„	sehr fein.
5	„ „	„	„ „	„	kaum sichtbar.
6a	bis 0·1 mm	„	„ „	undurchsichtig	sehr feine Colonieen.
6b	sehr zart	„	„ „	transparent	sehr fein.
7a	„ „	„	„ „	„	kaum sichtbar.
7b	„ „	„	„ „	„	„ „
8a	„ „	„	„ „	„	„ „
8b	„ „	„	„ „	„	„ „
9	„ „	„	„ „	„	feine Colonieen.
9a	bis 0·2 mm	„	„ „	„	kaum zu sehen.
9b	„ 0·2 „	„	„ „	„	„ „ „
10a	sehr zart	„	„ „	„	feine Colonieen.
10b	„ „	„	„ „	„	„ „
11	„ „	„	„ „	„	kaum sichtbar.
12	kaum zu sehen				nicht zu sehen.
13	sehr zart	rund	wenig erhaben	transparent	sehr feine Colonieen.
14a	„ „	„	„ „	„	kaum sichtbar.
14b	„ „	„	„ „	„	„ „
15	„ „	„	„ „	„	nicht zu sehen.
16	„ „	„	„ „	„	feine Colonieen.
17	„ „	„	„ „	„	sehr feine Colonieen.
18	„ „	„	„ „	„	nicht zu sehen.
19	„ „	„	„ „	„	sehr fein.
20a	„ „	„	„ „	„	„ „
20b	„ „	„	„ „	„	„ „
21	„ „	„	„ „	„	„ „
22	„ „	„	„ „	„	kaum sichtbar.
23a	„ „	„	„ „	„	„ „
23b	„ „	„	„ „	„	nicht zu sehen.
24	„ „	„	„ „	„	„
25	„ „	„	„ „	„	kaum zu sehen.
26a	„ „	„	„ „	„	„ „ „
26b	„ „	„	„ „	„	„ „ „
27a	„ „	„	„ „	„	„ „ „
27b	„ „	„	„ „	„	„ „ „
28	„ „	„	„ „	„	nicht zu sehen.
29	„ „	„	„ „	„	„
30	„ „	„	„ „	„	kaum sichtbar.

Tabelle IV. (Fortsetzung.)

Gelatine nach 4 bis 7 Tagen.

Nr.	Strich				Stich	Be-merkgn.
	Grösse	Form	Höhe	Aussehen		
1	bis 0·1 mm	rund	wen. erhaben	transparent	sehr feine Col.	
2a	„ 0·1 „	„	„ „	„	sehr kleine Col.	
2b	„ 0·1 „	„	„ „	„	kaum sichtbar	
3	„ 0·1 „	„	„ „	„	„ „	
4	„ 0·1 „	„	„ „	„	sehr feine Col.	
5	„ 0·2 „	„	„ „	„	kaum zu sehen	
6a	„ 0·3 „	„	„ „	wenig glänzend	feine confl. Col.	
6b	„ 0·1 „	„	„ „	transparent	sehr fein	
7a	„ 0·1 „	„	„ „	„	sehr zart	
7b	„ 0·1 „	„	„ „	„	kaum sichtbar	
8a	„ 0·1 „	„	„ „	„	„ „	
8b	unt. 0·1 „	„	„ „	„	„ „	
9	bis 0·2 „	„	„ „	undurchsichtig	feine Colonieen	
9a	„ 0·5 „	„	erhaben	glanzlos	0·1, isolirte Col.	
9b	„ 0·6 „	„	„	wenig glänzend	fast confluirend	
10a	„ 0·3 „	„	„	„ „	kleine Pünktchen	
10b	unt. 0·1 „	„	„	„ „	„ „	
11	bis 1·0 „	breiter	Strich confl.	Colonieen, matt	0·1 breit.	
12	sehr zart	rund	wen. erhaben	wenig glänzend	nicht zu sehen	
13	bis 0·3 mm	„	„ „	undurchsichtig	feine Colonieen	
14a	„ 0·3 „	„	„ „	„	sehr kleine Col.	
14b	„ 0·2 „	„	platt	glanzlos	„ „ „	
15	unt. 0·1 „	„	wen. erhaben	transparent	„ „ „	
16	bis 0·1 „	„	„ „	„	„ „ „	
17	„ 0·2 „	„	„ „	„	„ „ „	
18	„ 0·3 „	„	„ „	transp., z. Th. confl.	sehr feine Col.	
19	„ 0·1 „	„	„ „	transparent	„ „ „	
20a	sehr zart bis 0·1 mm	„ „	„ „ „ „	„ transp., glanzlos	„ „ „	2 Arten.
20b	„ 0·1 „	„	„ „	„ „	„ „ „	
21	„ 0·1 „	„	„ „	„ „	„ „ „	
22	„ 0·1 „	„	„ „	„ „	„ „ „	
23a	„ 0·3 „	„	„ „	„ „	„ „ „	
23b	„ 0·1 „	„	„ „	„ „	kaum sichtbar	
24	„ 0·4 „	„	erhaben	undurchs., „	0·1 isolirte Col.	
25	„ 0·3 „	„	wen. erhaben	transp., „	s. feine confl. „	
26a	„ 0·2 „	„	„ „	„ wen. glänz.	„ „ „	
26b	unt. 0·1 „	„	„ „	„ „ „	„ „ „	
27a	bis 0·1 „	„	„ „	„ „ „	„ „ „	
27b	„ 0·1 „	„	„ „	„ „ „	„ „ „	
28	„ 0·1 „	„	„ „	„ „ „	„ „ „	
29	unt. 0·1 „	„	„ „	„ „ „	„ „ „	
30	bis 0·3 „	„	„ „	„ „ „	feine confl. Col.	

Tabelle IV. (Fortsetzung.)

Gelatine nach 12 Tagen.

Nr.	Strich				Stich	Bemerkg.
	Grösse	Form	Höhe	Aussehen		
1	bis 0·5 mm	rund	wen. erhaben	transparent	fein	
2a	„ 0·5 „	„	„ „	undurchsichtig	bis 0·1 mm isol. Col.	
2b	„ 0·2 „	„	„ „	transparent	sehr fein	
3	„ 0·1 „	„	„ „	„	kaum sichtbar	
4	„ 0·1 „	„	„ „	„	fein, transparent	
5	„ 0·3 „	„	„ „	wenig glänzend	feine fast confl. Col.	
6a	„ 0·5 „	„	erhaben	glänzend	fein confluirend	
6b	„ 0·3 „	„	wen. erhaben	transparent	sehr fein	
7a	„ 0·2 „	„	„ „	undurchsichtig	feine Colonieen	
7b	„ 0·2 „	„	„ „	transparent	sehr feine Col.	
8a	„ 0·8 „	„	platt	undurchsichtig	feine u. gröb. Col.	
8b	„ 0·1 „	„	wen. erhaben	matt	s. feine fast confl. C.	
9	„ 0·2 „	„	„ „	wenig glänzend	feine fast confl. Col.	
9a	„ 2·0 „	„	erhaben	„ „	0·1, isolirte Col.	
9b	„ 1·5 „	„	„	glänzend	feine isolirte Col.	
10a	„ 0·3 „	„	„	wenig glänzend	feine fast confl. Col.	
10b	„ 0·1 „	„	„	„ „	„ „ „	
11	„ 0·5 isol.	„	„	matt	confl. Stich	
12	unt. 0·1 mm	„	wen. erhaben	glanzlos	kaum sichtbar	
13	bis 0·5 „	„	„ „	matt	feine Colonieen	
14a	„ 0·5 „	„	„ „	undurchsichtig	sehr feine Col.	
14b	„ 0·4 „	„	platt	„	„ „ „	
15	„ 0·1 „	„	wen. erhaben	transp., glanzlos	„ „ „	
16	„ 0·3 „	„	„ „	undurchs., „	sehr feine isol. Col.	
17	„ 0·2 „	„	„ „	„ „	„ „ „ „	
18	„ 1·0 „	„	erhaben	wenig glänzend	feine isolirte Col.	
19	„ 0·2 „	„	platt	transp., glanzlos	sehr feine confl. Col.	
20a	„ 0·1 „ „ 0·5 „	„ „	wen. erhaben erhaben	„ „ „ glänzend	„ „ „	2 Arten.
20b	„ 0·1 „	„	wen. erhaben	transparent	„ „ „	
21	„ 0·2 „	„	„ „	glanzlos	„ „ „	
22	„ 0·5 „	„	erhaben	„	„ „ „	
23a	„ 1·0 „	„	„	wenig glänzend	„ „ „	
23b	„ 0·2 „	„	„	„ „	sehr feine isol. Col.	
24	„ 2·0 „	„	„	„ „	feine isolirte Col.	
25	„ 1·5 „	„	„	„ „	feine fast confl. Col.	
26a	„ 1·0 „	„	wen. erhaben	„ „	sehr feine confl. „	
26b	„ 0·3 „	„	„ „	„ „	„ „ isol. „	
27a	„ 0·3 „	„	„ „	„ „	„ „ „ „	
27b	„ 0·2 „	„	„ „	„ „	sehr f. fast confl. „	
28	„ 0·4 „	„	„ „	glanzlos	„ „ „ „	
29	„ 0·2 „	„	„ „	wenig glänzend	sehr feine Col.	
30	„ 1·2 „	„	„ „	„ „	„ „ „	

Tabelle IV. (Fortsetzung.) Gelatine nach 30 Tagen.

Nr.	Strich				Stich	Bemerkg.
	Grösse bis	Form	Höhe	Aussehen		
1	1·0mm	rund	wen. erhaben	glanzlos, opal	feine isol. Colon.	
2a	0·6 „	„	erhaben	glanzlos	0·4mm isolirte „	
2b	0·2 „	„	wen. erhaben	undurchsichtig	feine isolirte Col.	
3	0·2 „	„	„ „	glanzlos	kaum zu sehen	
4	0·2 „	„	„ „	„	feine transp. Col.	
5	0·5 „	„	erhaben	wenig glänzend	feine isolirte Col.	
6a	1·0 „	„	„	glänzend	feine fast confl. „	
6b	0·8 „	„	„	glanzlos, undurchs.	sehr feine confl. „	
7a	1·0 „	„	wen. erhaben	„ „	0·3 isol. Col.	
7b	0·8 „	„	erhaben	wenig glänzend	0·4 „ „	
8a	1·0 „	„	„	wen. glz., undurchs.	feine u. gröb. Col.	
8b	0·4 „	„	„	glanzlos, „	sehr feine isol. „	
9	0·4 „	„	wen. erhaben	wenig glänzend	feine isol. Col.	
9a	3·0 „	„	erhaben	glänzend	0·1 „ „	
9b	2·5 „	„	„	„	0·1 „ „	
10a	0·5 „	„	„	wenig glänzend	kleine confl. Col.	
10b	0·2 „	„	wen. erhaben	glanzlos	sehr feine Col.	
11	0·5 „	„	erhaben	wenig glänzend	confluirend	
12	0·1 „	„	wen. erhaben	glanzlos	sehr feine Col.	
13	1·0 „	„	erhaben	glänzend, undurchs.	bis 0·5mm isol. Col.	
14a	0·8 „	„	„	„ „	0·2 „ „ „	
14b	0·8 „	„	„	wenig glänzend	0·2 „ „ „	
15	0·3 „	„	„	glanzlos	sehr feine isol. Col.	
16	{1·5 „ 0·5 „	„ „	„ „	undurchs., wen. glz. „ glanzlos}	feine isol. Col. }	2 Arten.
17	0·8 „	„	„	„ „	feine confl. Col.	
18	1·0 „	„	„	wenig glänzend	feine isol. Col.	
19	1·0 „	„	„	„ „	„ „ „	
20a	{0·6 „ 4·0 „	„ „	wen. erhaben erhaben	„ „ glänzend}	feine confl. Col. }	2 Arten.
20b	1·0 „	„	wen. erhaben	glanzlos	feine isol. Col.	
21	0·8 „	„	erhaben	undurchs., wen. glz.	0·2 isol. Col.	
22	0·5 „	„	„	„ glanzlos	feine confl. Col.	
23a	1·0 „	„	„	„ wen. glänz.	feine fast confl. Col.	
23b	{3·0 „ 0·1—1·0	„ „	„ wen. erhaben	„ „ „ „ glänzend}	feine isol. Col. }	2 Arten.
24	3·0 „	„	erhaben	„ wen. glänz.	0·2 „ „	
25	1·5 „	„	„	„ „ „	0·1 „ „	
26a	1·0 „	„	„	„ „ „	feine fast confl. Col.	
26b	{0·6 „ 1·2 „	„ „	wen. erhaben erhaben	„ „ „ „ „ „}	0·1 isol. Col. }	2 Arten.
27a	1·2 „	„	„	„ „ „	0·2 „ „	
27b	{0·2 „ 4·0 „	„ eckig	platt erhaben	glanzlos wenig glänzend}	0·1 „ „ }	2 Arten.
28	{1·0 „ 3·0 „	rund „	wen. erhaben erhaben	glanzlos wenig glänzend}	feine „ „ }	2 Arten.
29	0·2 „	„	platt	glanzlos	„ „ „	
30	1·2 „	„	erhaben	glänzend	„ fast confl.	



Tabelle IV. (Fortsetzung.)
Gelatine nach 40 Tagen.

Nr.	Strich				Stich	Bemerkg.
	Grösse bis	Form	Höhe	Aussehen		
1	1·0mm	rund	wen. erhaben	glanzlos	feine isolirte Col.	
2a	0·8 „	„	erhaben	„	bis 0·5 runde isol. „	
2b	0·5 „	„	etwas erhaben	undurchsichtig	sehr feine isol. „	
3	0·3 „	„	„ „	glanzlos	sehr feine confl. „	
4	0·5 „	„	„ „	„	„ „ isol. „	
5	0·8 „	„	erhaben	wenig glänzend	„ „ „ „	
6a	1·0 „	„	„	„ „	feine fast confl. „	
6b	0·6 „	„	wen. erhaben	glanzlos	sehr feine „ „	
7a	1·0 „	„	„ „	„	0·3 isolirte Col.	
7b	1·0 „	„	erhaben	„	0·4 „ „	
8a	1·0 „	„	„	glanzlos, undurchs.	feine „ „	
8b	0·6 „	„	„	„ „	„ „ „	
9	0·4 „	„	wen. erhaben	wenig glänzend	„ „ „	
9a	3·0 „	„	erhaben	glänzend	0·2 „ „	
9b	3·0 „	„	„	„	0·2 „ „	
10a	0·5 „ 0·8 „	gefrzt. rund	wen. erhaben erhaben	wenig glänzend „ „	kleine confl. Col.	2 Arten.
10b	0·2 „	„	„	„ „	sehr feine Col.	
11	0·5 „	„	„	„ „	confluirend	
12	0·1 „	„	wen. erhaben	„ „	sehr feine Col.	
13	1·2 „	„	erhaben	„ „	0·5 isolirte Col.	
14a	1·0 „	„	„	„ „	confluirende Col.	
14b	0·8 „	„	„	„ „	„ „	
15	0·6 „ 2·0 „	„ „	„ „	glanzlos wenig glänzend	feine confl. Col.	2 Arten.
16	1·6 „ 0·6 „	„ „	„ „	„ „ „ „	0·1 isolirte Col.	2 Arten.
17	0·8 „	„	„	glanzlos	feine confl. Col.	
18	1·0 „	„	„	wenig glänzend	„ isolirte „	
19	0·3 „ 1·5 „	„ „	„ „	glanzlos wenig glänzend	„ „ „	2 Arten.
20a	1·0 „ 5·0 „	„ „	„ „	„ „ glänzend	„ „ „	2 Arten.
20b	1·0 „	„	wen. erhaben	glanzlos	„ „ „	
21	0·8 „	„	erhaben	„	0·2 „ „	
22	0·5 „ 1·2 „	„ „	wen. erhaben erhaben	wenig glänzend „ „	feine confl. Col.	2 Arten.
23a	4·0 „	eckig	„	„ „	„ „ „	

Nr. 24 bis 30 haben sich nicht weiter verändert.





Tabelle V. **Kartoffel.**

Nr.	Nach 2 Tagen	Nach 13 Tagen	Nach 21 Tagen
1	dünner, grauer, feucht. Belag	desgl.	etwas dicker, grauer B.
2a	grauer, etwas trockner Belag	„	desgl.
2b	sehr dünner, grauer Belag	„	„
3	dünner, grauer, etwas trockener Belag	dünner, feuchter Belag	dünner, grauer, feuchter Belag
4	grauw., dünner, feucht. Belag	desgl.	desgl.
5	dünner, grauer, etwas trockener Belag	dünner, grauer, feuchter Belag	„
6a	feuchter, grauer Belag	desgl.	„
6b	wie 6a, etwas dünner	„	„
7a	grauer, trockener Belag	„	„
7b	wie 7a, etwas üppiger	„	„
8a	dünner, grauer, etwas trockener Belag	„	dünner, grauer, trock. B.
8b	wie 8a, jedoch üppiger	„	desgl.
9a	graugelbl., etwas trock. Belag	bräunlicher, feuchter Belag	wie nach 13 Tagen
9b	dünner, grauer, etwas tr. Bel.	desgl.	wie früher
10a	graugelblicher, feucht. Belag	„	desgl.
10b	undeutlich	dünner, grauer, trockener B.	wie nach 13 Tagen
11	graubräunlicher, feuchter, üppiger Belag	desgl.	desgl.
12	dünner, grauer, trock. Belag	dünner, etw. feucht., grauer B.	wie früher
13	dünner, feucht., grauer Belag	desgl.	desgl.
14a	grauweissl., dünner, feucht. B.	„	„
14b	wie 14a	„	„
15	graugelblicher, trock. Belag	„	„
16	graugelblicher, üppiger, etwas feuchter Belag	graugelblicher, üppiger, trockener Belag	„
17	graubräunl., üppig., feucht. B.	desgl.	„
18	graugelbl., dünner, feucht. B.	„	„
19	dünner, grauer, etw. trock. B.	„	„
20a	dünuer, graugelbl., trock. B.	„	„
20b	dünner, grauer, etw. feucht. B.	„	wie 20a, etwas feuchter
21	dünner, grauer, trock. Belag	„	desgl.
22	dünner, grauweissl., feucht. B.	„	„
23a	graugelbl., etwas feuchter B.	„	„
23b	wie 23a	„	„
24	grauer, dünner, feuchter B.	„	„
25	nach 3 Tagen grauweisser, feuchter Belag	nach 10 Tagen desgl.	nach 18 Tagen desgl.
	nach 5 Tagen:	nach 14 Tagen:	nach 21 Tagen:
26a	graugelbl., dünner, feucht. B.	desgl.	desgl.
26b	wie 26a	„	„
27a	grauer, feuchter, glänz. Belag	dünner, feuchter, grauer B.	„
27b	wie 27a	desgl.	„
28	grauer, dünner Belag	„	„
29	grauer, dünner, feuchter B.	„	„
30	dünner, graugelbl., feucht. B.	„	„



Tabelle VI. **Bouillon.**

Stammcultur	Nach 24 Stunden.			
Nr.	Aussehen	Membran	Bodensatz	Reaction
1	allgemeine Trübung	keine	kein	neutral
2a	„ „	„	„	leicht sauer
2b	„ „	„	„	neutral
3	bröckelig, ohne diffuse Trüb.	„	bröckelig	„
4	bröckelig, ohne Trübung	„	„	„
5	„ „	„	leicht bröckel.	„
6	fein bröckelig	„	kein	„
6a	Trübung, fein bröckelig	deutliche	wenig	leicht sauer
6b	Trübg., m. feinst. Bröckelch.	keine	gering	„
7a	leichte Trübung	zarte	„	neutral
7b	„ „	keine	„	„
8a	bröckelig, ohne Trübung	deutliche	bröckelig	„
8b	„ „	keine	„	„
9	bröckelig	„	„	„
9a	allgemeine Trübung	leichte	wenig	„
9b	„ „	„	„	„
10a	„ „	keine	kein	„
10b	„ „	„	„	„
11	„ „	„	„	leicht sauer
12	leichte Trübung	„	spärlich	neutral
13	„ „	„	kein	„
14	bröckelig	„	spärlich	leicht sauer
14a	leichte Trübung	deutliche	„	„
14b	„ „	„	„	„
15	allgemeine Trübung	keine	„	neutral
15a	Bröckelbildung	starke	leichter	„
15b	allgemeine Trübung	leichte	spärlich	„
16	Bröckelbildung	keine	bröckelig	„
17	allgemeine Trübung	„	kein	„
18	„ „	leichte	„	„
19	leichte Trübung	zarte	reichlich	„
20a	allgemeine Trübung	keine	leicht bröckel.	„
20b	„ „	„	„	sauer
21	„ „	„	gering	alkalisch
22	leichte Trübung	leichte	bröckelig	neutral
23a	Bröckelbildung	deutliche	gering	„
23b	„	„	„	„
24	leichte Tr., durch Bröckeln	keine	„	„
25	allgemeine Trübung	„	wenig	„
26	Bröckelchen	„	gering	„
26a	„	leichte	„	leicht alkal.
26b	allgemeine Trübung	„	„	„
27	leichte Trübung	„	„	leicht sauer
27a	„ „	„	„	neutral
27b	„ „	„	„	leicht alkal.
28	Bröckelchen	„	„	neutral
29	„	keine	reichlich	„
30	diffuse Trübung	„	kein	„

Tabelle VI. (Fortsetzung.)

Stammcultur	Nach 48 Stunden.			
Nr.	Aussehen	Membran	Bodensatz	Reaction
1	allgemeine Trübung	keine	deutlich	neutral
2a	" "	"	wenig	"
2b	" "	"	"	"
3	Bröckelbildung	"	bröckelig	"
4	bröckelig	"	"	"
5	Bröckelbildung	"	wenig	leicht sauer
6	fein bröckelig	geringe	kein	neutral
6a	mehr Trübung	deutliche	wenig	sauer
6b	mehr bröckelig	keine	bröckelig	"
7a	leichte Trübung	zarte	gering	leicht sauer
7b	" "	leichte	"	neutral
8a	trübe mit Bröckelbildung	dicke	"	"
8b	"	keine	"	"
9	leichte Trübung	leichte	bröckelig	"
9a	" "	"	"	"
9b	" "	"	"	sauer
10a	trübe	keine	kein	neutral
10b	"	"	"	"
11	allgemeine Trübung	"	"	leicht sauer
12	" "	"	spärlich	neutral
13	leichte Trübung	"	"	leicht sauer
14	bröckelig	leichte	"	"
14a	trübe	"	"	sauer
14b	leicht trübe	"	"	leicht sauer
15	allgemeine Trübung	Andeutung	reichlich	sauer
15a	leicht trübe, mit Bröckelchen	dicke	bröckelig	"
15b	allgemeine Trübung	Spur	schleimig	"
16	leicht trübe	keine	leichter, bröck.	leicht sauer
17	allgemeine Trübung	"	wenig	"
18	" "	deutliche	"	neutral
19	deutlich trübe	"	reichlich	leicht sauer
20a	leichte Trübung	keine	leichter	neutral
20b	" "	"	"	sauer
21	starke Trübung	"	wenig	leicht sauer
22	leichte Trübung	leichte	bröckelig	neutral
23a	leicht trübe	deutliche	"	"
23b	" "	"	"	"
24	" "	leichte	"	leicht alkal.
25	allgemeine Trübung	"	leichter	sauer
26	Bröckelchen	Spur	bröckeliger	leicht sauer
26a	"	"	"	sauer
26b	keine Bröckelchen	"	schleimig	neutral
27	leichte Trübung	leichte	bröckelig, schleim.	"
27a	" "	"	"	leicht sauer
27b	" "	"	"	"
28	" "	deutliche	bröckelig	neutral
29	" "	keine	bröckelig, schleim.	leicht sauer
30	allgemeine Trübung	"	gering	sauer

Tabelle VI. (Fortsetzung.)

Stammcultur	Nach 4 Tagen.			
Nr.	Aussehen	Membran	Bodensatz	Reaction
1	Trübung	keine	leicht	sauer
2a	allgemein trübe	„	stärker	leicht sauer
2b	„	„	„	„
3	leichte Trübung	leichte	reichlich	„
4	leicht trübe	dünne	mässig	„
5	leichte Trübung	„	„	„
6	„ „	geringe	leicht	sauer
6a	„ „	dünne	„	leicht sauer
6b	„ „	zarte	bröckelig	leicht alkal.
7a	„ „	dünne	gering	sauer
7b	fast klar	keine	„	„
8a	Trübung	dicke	„	sehr sauer
8b	stärkere Trübung	leichte	„	sauer
9	leichte Trübung	Spur	bröckelig	leicht sauer
9a	„ „	„	„	leicht alkal.
9b	„ „	„	schleimig	sauer
10a	Trübung	keine	spärlich	„
10b	leichte Trübung	„	„	„
11	„ „	„	„	leicht sauer
12	„ „	„	„	neutral
13	Trübung	starke	deutlich	alkalisch
14	sehr leicht trübe	leichte	reichlich	sauer
14a	trübes	„	leicht	leicht alkal.
14b	starke Trübung	„	„	„
15	Trübung	„	bröckelig	„
15a	leicht trübe mit Bröckelchen	starke	„	leicht sauer
15b	leichte Trübung	keine	„	neutral
16	„ „	Spur	stärker	stark sauer
17	allgemeine Trübung	keine	wenig	leicht sauer
18	starke Trübung	deutliche	reichlich	alkalisch
19	leichte Trübung	„	„	neutral
20a	„ „	keine	leicht	„
20b	„ „	„	„	„
21	„ „	deutliche	starker	„
22	„ „	leichte	bröckel., schleim.	leicht alkal.
23a	„ „	dünne	bröckelig	neutral
23b	„ „	„	„	leicht alkal.
24	„ „	deutliche	gering	„
25	allgemeine Trübung	leichte	„	leicht sauer
26	leichte Trübung	Spur	bröckel., schleim.	„
26a	„ „	keine	„	„
26b	„ „	„	„	leicht alkal.
27	„ „	leichte	„	neutral
27a	„ „	keine	„	„
27b	„ „	„	„	leicht alkal.
28	„ „	deutliche	mässig	neutral
29	„ „	keine	bröckel., schleim.	sauer
30	„ „	„	„	leicht sauer

Tabelle VI. (Fortsetzung.)

Stammcultur	Nach 7 Tagen.			
Nr.	Aussehen	Membran	Bodensatz	Reaction
1	leichte Trübung	dünne	reichlich	neutral
2a	trübe	"	"	"
2b	"	keine	"	"
3	leicht trübe	deutliche	"	"
4	trübe	dünne	mässig	"
5	Trübung	dicke	reichlich	"
6	leichte Trübung	leichte	"	"
6a	aufgeklärt	dünne	schleim., bröckel.	leicht alkal.
6b	"	zarte	bröckelig	"
7a	"	keine	reichlich	sauer
7b	"	"	"	"
8a	leichte Trübung	dicke	"	leicht alkal.
8b	Trübung	leichte	"	neutral
9	leichte Trübung	Spur	"	leicht alkal.
9a	klar	keine	"	neutral
9b	fast klar	"	"	sauer
10a	Trübung	"	"	leicht sauer
10b	"	leichte	"	neutral
11	aufgeklärt	keine	"	leicht sauer
12	"	"	mässig	leicht alkal.
13	leichte Trübung	starke	"	alkalisch
14	fast klar	leichte	reichlich	"
14a	"	"	bröckelig	leicht alkal.
14b	"	"	"	neutral
15	trübe	"	"	alkalisch
15a	leicht trübe	starke	"	neutral
15b	"	keine	bröckel., schleim.	leicht alkal.
16	"	Spur	bröckelig	sauer
17	starke Trübung	dünne	reichlich	alkalisch
18	stark trübe	deutliche	"	"
19	leicht trübe	dünne	schleimig	"
20a	"	leichte	leicht	sauer
20b	"	"	"	neutral
21	wenig trübe	dicke	starker	alkalisch
22	fast klar	keine	bröckel., schleim.	leicht alkal.
23a	"	dünne	"	"
23b	leicht trübe	leichte	"	"
24	"	"	"	alkalisch
25	allgemeine Trübung	"	bröckelig	neutral
26	leicht trübe mit Bröckelchen	dicke	reichlich	"
26a	fast klar	keine	schleim., bröckel.	sauer
26b	"	"	"	leicht alkal.
27	leichte Trübung	leichte	"	neutral
27a	fast klar	keine	"	sauer
27b	"	"	"	leicht sauer
28	leicht trübe	deutliche	bröckelig	leicht alkal.
29	allgemeine Trübung	"	bröckel., schleim.	sauer
30	fast klar	keine	"	leicht alkal.

Tabelle VI. (Fortsetzung.)

Stammcultur	Nach 10 Tagen.			
Nr.	Aussehen	Membran	Bodensatz	Reaction
1	aufgeklärt	dicke	reichlich	alkalisch
2a	leicht trübe	"	"	"
2b	"	leichte	"	"
3	trübe	dicke	"	"
4	leicht trübe	leichte	bröckelig	"
5	leichte Trübung	dicke	reichlich	"
6	leicht trübe	dünne	"	"
6a	klar	keine	"	"
6b	leicht trübe	"	mässig	"
7a	klar	"	reichlich	leicht alkal.
7b	"	"	"	leicht sauer
8a	Trübung	dicke	"	alkalisch
8b	"	dünne	"	stark alkalisch
9	"	leichte	"	alkalisch
9a	klar	keine	bröckelig, schleimig	neutral
9b	"	"	"	sauer
10a	Trübung	"	reichlich	leicht alkal.
10b	"	leichte	"	alkalisch
11	klar	keine	"	"
12	"	"	mässig	leicht alkal.
13	aufgeklärt	dicke	bröckelig, schleimig	stark alkal.
14	klar	leichte	reichlich	"
14a	leicht trübe	keine	bröckelig	alkalisch
14b	"	"	"	leicht alkal.
15	trübe	dünne	bröckelig, schleimig	alkalisch
15a	leicht trübe	deutliche	"	neutral
15b	"	keine	"	leicht alkal.
16	Trübung	leichte	"	leicht sauer
17	stark trübe	"	reichlich	alkalisch
18	etwas klarer	deutliche	schleimig, bröckelig	"
19	klar	leichte	bröckelig, schleimig	"
20a	"	keine	bröckelig	leicht alkal.
20b	fast klar	"	"	neutral
21	klar	leichte	bröckelig, schleimig	alkalisch
22	fast klar	"	"	leicht alkal.
23a	"	dicke	"	alkalisch
23b	"	leichte	"	"
24	leicht trübe	"	schleimig, bröckelig	"
25	noch trübe	"	"	"
26	etwas geklärt	dicke	bröckelig, schleimig	neutral
26a	fast klar	keine	"	leicht sauer
26b	"	"	"	leicht alkal.
27	"	dicke	"	"
27a	klar	keine	"	neutral
27b	"	"	"	"
28	noch trübe	deutliche	"	"
29	klar	keine	"	leicht sauer
30	"	"	mehr schleimig	leicht alkal.

Tabelle VI. (Fortsetzung.)

Stammcultur Nr.	Nach 20 Tagen. Aussehen	Membran	Bodensatz	Reaction
1	unverändert			
2a	leicht trübe	verschwunden	schleimig, bröckelig	alkalisch
2b	„	„	„	„
3	aufgeklärt	„	bröckelig	„
4	klar	keine	bröckelig, schleimig	„
5	„	keine mehr	bröckelig	„
6	leicht trübe	keine	schleimig	„
6a	klar	„	schleimig, bröckelig	„
6b	leicht trübe	deutliche	bröckelig, staubig	„
7a	klar	keine	schleimig, bröckelig	leicht alkal.
7b	„	„	„	neutral
8a	„	„	„	alkalisch
8b	„	„	„	„
9	„	„	bröckelig, schleimig	„
9a	„	„	„	leicht alkal.
9b	„	„	„	„
10a	„	„	„	alkalisch
10b	„	„	„	„
11	„	„	schleimig, bröckelig	„
12	„	„	gering	„
13	„	noch deutlich	reichlich	„
14	„	Spur	schleimig, bröckelig	„
14a	„	keine	„	„
14b	leicht trübe	„	„	„
15	klar	„	bröckelig, schleimig	„
15a	fast klar	deutlich	„	neutral
15b	leicht trübe	keine	„	alkalisch
16	klar	„	„	neutral
17	„	„	schleimig, bröckelig	alkalisch
18	fast klar	„	„	„
19	klar	„	„	„
20a	„	„	„	„
20b	„	„	„	neutral
21	„	„	„	alkalisch
22	fast klar	„	„	„
23a	klar	noch deutlich	„	„
23b	„	keine	„	„
24	leicht trübe	Spur	„	„
25	klar	keine	„	„
26	leicht trübe	dünne	„	„
26a	„	keine	„	„
26b	klar	„	„	„
27	„	„	„	„
27a	„	„	„	„
27b	„	„	„	„
28	leicht trübe	„	„	„
29	„	„	„	„
30	klar	„	„	„

Tabelle VII. **Mikroskopische Untersuchung.**

Grösse.

Nr.	Agar[1] mittlere Länge	Agar[1] Extreme	Glycerinagar (13 Tage alt)	Blutserum (2 Tage alt)	Gelatine (20 Tage alt)	Kartoffel (17 Tage alt)
1	4·5 μ	2·5—8·0 μ	mittellang	mittellang	kurz	mittellang
2a	5·5 „	1·6—8·0 „	„	ziemlich lang	mittellang	kurz
2b	4·0 „	1·6—8·0 „	„	mittellang	„	
3	4·0 „	1·6—8·0 „	lang	„	„	lang
4	3·0 „	1·5—6·2 „	„	„	„	mittellang
5	3·0 „	1·5—5·5 „	mittellang	„	kurz	kurz
6a	4·7 „	1·5—9·0 „	„	„	mittellang	lang
6b	2·0 „	0·8—3·2 „	kurz	kurz	„	kurz
7a	4·0 „	1·6—8·0 „	lang	„	„	mittellang
7b	3·2 „	1·5—7·0 „	mittellang	„	„	„
8a	4·7 „	1·6—9·0 „	„	ziemlich lang	kurz	„
8b	3·2 „	1·0—7·0 „	lang	„	mittellang	„
9a	4·7 „	1·6-10·0 „	mittellang	lang	„	sehr kurz
9b	4·4 „	1·0-10·0 „	„	„	„	„
10a	3·1 „	1·5—7·0 „	„	„	lang	mittellang
10b	3·1 „	1·5—7·8 „	„	„	mittellang	lang
11	2·8 „	0·8—7·0 „	kurz	kurz	„	mittellang
12	2·5 „	0·8—2·5 „	sehr kurz[2]	sehr kurz[2]	„	
13	2·0 „	0·7—3·1 „	kurz	bis mittellang	„	kurz
14a	3·9 „	0·8—7·8 „	lang	mittellang	lang	mittellang
14b	2·8 „	0·8—4·6 „	„	lang	mittellang	lang
15	2·8 „	0·9—6·2 „	„	mittellang	„	mittellang
16	5·4 „	1·6-14·0 „	„	„	„	kurz
17	3·5 „	0·8—7·8 „	kurz	kurz	sehr kurz[2]	mittellang
18	1·9 „	0·7—3·1 „	„	„	kurz	kurz
19	3·9 „	1·6—9·0 „	lang	mittellang	mittellang	kurz u. lang
20a	3·9 „	1·5—8·0 „	„	lang	kurz	
20b	2·3 „	1·2—4·0 „	„	„	mittellang	
21	1·6 „	0·8—3.1 „	mittellang	„	„	lang
22	4·4 „	1·6—7·8 „	lang	mittellang	lang	mittellang
23a	4·4 „	1·6—7·8 „	mittellang	lang	mittellang	kurz
23b	3·9 „	1·5—7·0 „	lang	„	„	mittellang
24	4·6 „	1·6—9·3 „	„	mittellang	„	„
25	1·6 „	0·5-2·4 „	mittellang	„	„	kurz
26a	2·8 „	0·8—6·2 „	„	„	„	sehr kurz[2]
26b	4·0 „	0·8—9·3 „	„	„	„	kurz
27a	1·9 „	0·6-3·9 „	lang	„	„	„
27b	4·0 „	1·6—9·3 „	„	„	„	„
28	4·6 „	1·6—9·3 „	mittellang	„	„	mittellang
29	3·1 „	0·8-6·2 „	lang	„	kurz	„
30	1·3 „	0·4—2·3 „	mittellang	ziemlich lang	mittellang	„

[1] Bacillen bis 1·9 gelten als kurz, 2—4 μ mittellang, über 4 μ als lang.

[2] Sehr kurz, sehen aus wie Kokken, sind jedoch durch ihre parallele Lagerung als D.-B. zu erkennen.



Tabelle VII. (Fortsetzung.)

Dicke.

Nr.	Agar[1] mittlere Dicke	Glycerinagar	Blutserum	Gelatine	Kartoffel
1	0·8 μ	schlank	schlank	ziemlich dick	dick
2a	0·6 „	ziemlich schlank	„	„	schlank
2b	1·2 „	„	„	„	ziemlich dick
3	1·2 „	„	ziemlich dick	„	„
4	1·0 „	„	ziemlich schlank	„	„
5	1·0 „	„	ziemlich dick	„	schlank
6a	0·8 „	ziemlich dick	schlank	„	ziemlich dick
6b	0·6 „	„	„	„	„
7a	1·0 „	„	„	„	„
7b	1·0 „	„	„	„	„
8a	0·7 „	ziemlich schlank	„	ziemlich schlank	
8b	1·0 „	„	„	„	
9a	0·6 „	ziemlich dick	ziemlich dick	ziemlich dick	dick
9b	0·9 „	„	„	„	„
10a	0·6 „	„	dick	„	„
10b	0·9 „	„	„	„	„
11	0·6 „	„	„	„	ziemlich dick
12	0·8 „	„	ziemlich dick	„	
13	0·6 „	„	„	„	ziemlich schlank
14a	0·7 „	„	schlank	„	schlank
14b	0·6 „	ziemlich schlank	„	ziemlich schlank	ziemlich dick
15	0·7 „	„	ziemlich dick	ziemlich dick	„
16	0·8 „	„	„	„	„
17	0·7 „	„	schlank	„	ziemlich schlank
18	0·6 „	ziemlich dick	ziemlich dick	ziemlich dick	„
19	0·6 „	schlank	schlank	„	„
20a	0·6 „	ziemlich dick	„	ziemlich schlank	
20b	0·7 „	schlank	„	ziemlich dick	
21	0·6 „	„	„	ziemlich schlank	schlank
22	0·8 „	„	„	„	„
23a	0·6 „	ziemlich dick	ziemlich dick	„	„
23b	0·8 „	ziemlich schlank	„	ziemlich dick	ziemlich schlank
24	0·8 „	schlank	schlank	„	ziemlich dick
25	0·4 „	ziemlich schlank	„	„	„
26a	0·7 „	ziemlich dick	„	ziemlich schlank	„
26b	0·8 „	„	„	ziemlich dick	dick
27a	0·7 „	„	„	ziemlich schlank	ziemlich dick
27b	0·8 „	„	„	„	„
28	0·8 „	„	„	„	„
29	0·8 „	„	„	„	ziemlich schlank
30	0·6 „	„	„	„	„

[1] Bacillen bis zu 0·6 μ Dicke gelten als schlank, über 0·6 μ als dick.



Tabelle VII. (Fortsetzung.)

Sogenannte Degenerationsformen (Keulen-, Hanteln- u. s. w. Formen).

Nr.	Agar	Glycerinagar	Blutserum	Gelatine	Kartoffel
1	selten	häufig	häufig	fehlen	häufig
2a	zieml. häufig	„	selten	zieml. häufig	zieml. häufig
2b	häufig	„	häufig	selten	„
3	„	„	„	häufig	sehr häufig
4	sehr häufig	sehr häufig	„	„	„
5	fehlen	häufig	„	zieml. häufig	„
6a	zieml. häufig	„	selten	„	häufig
6b	selten	„	„	„	sehr häufig
7a	sehr häufig	sehr häufig	„	sehr häufig	selten
7b	häufig	„	„	häufig	häufig
8a	„	häufig	„	„	„
8b	sehr häufig	sehr häufig	„	„	„
9a	zieml. häufig	häufig	häufig	zieml. häufig	selten
9b	sehr häufig	selten	zieml. häufig	zieml. selten	„
10a	zieml. selten	zieml. häufig	selten	häufig	häufig
10b	„	„	„	„	„
11	zieml. häufig	zieml. selten	fehlen	zieml. häufig	selten
12	selten	„	„	häufig	„
13	sehr selten	„	„	„	„
14a	häufig	sehr häufig	zieml. selten	sehr häufig	häufig
14b	sehr häufig	„	„	selten	„
15	selten	häufig	zieml. häufig	sehr häufig	„
16	sehr häufig	„	selten	zieml. häufig	„
17	häufig	sehr selten	„	selten	selten
18	selten	selten	„	zieml. selten	„
19	häufig	sehr häufig	häufig	„	häufig
20a	zieml. häufig	zieml. häufig	zieml. selten	selten	„
20b	selten	„	„	häufig	„
21	häufig	„	selten	zieml. häufig	„
22	sehr häufig	sehr häufig	„	sehr häufig	„
23a	zieml. häufig	häufig	„	selten	„
23b	häufig	„	zieml. selten	sehr häufig	„
24	sehr häufig	„	„	zieml. selten	„
25	zieml. häufig	selten	selten	selten	zieml. häufig
26a	zieml. selten	„	„	häufig	selten
26b	häufig	zieml. selten	zieml. häufig	„	„
27a	zieml. häufig	häufig	selten	zieml. selten	„
27b	häufig	„	zieml. häufig	sehr häufig	„
28	„	zieml. häufig	häufig	„	häufig
29	sehr häufig	sehr häufig	zieml. häufig	zieml. selten	„
30	zieml. selten	selten	zieml. selten	selten	selten



Tabelle VII. (Fortsetzung.)

Segmentirte Färbung.

Nr.	Agar	Glycerinagar	Blutserum	Gelatine	Kartoffel
1	häufig	häufig	häufig	fehlt	häufig
2a	„	„	„	zieml. häufig	selten
2b	„	„	„	selten	„
3	„	„	„	zieml. selten	„
4	sehr häufig	„	„	häufig	häufig
5	selten	„	„	selten	selten
6a	sehr häufig	„	„	„	häufig
6b	häufig	„		„	„
7a	„	„	zieml. häufig	häufig	sehr häufig
7b	sehr häufig	„	„	„	häufig
8a	häufig	„	„	„	„
8b	„	„	„	„	„
9a	sehr häufig	„	häufig	„	„
9b	„	„	sehr häufig	selten	„
10a	„	zieml. häufig	häufig	zieml. häufig	„
10b	„	„	„	häufig	selten
11	selten	„	fehlt	zieml. selten	„
12	fehlt	selten	„	sehr häufig	fehlt
13	„	„	selten	„	selten
14a	häufig	häufig	häufig	„	häufig
14b	sehr häufig	„	sehr häufig	zieml. häufig	„
15	„	„	zieml. selten	sehr häufig	„
16	„	selten	zieml. häufig	häufig	„
17	häufig	„	selten	selten	selten
18	zieml. häufig	„	„	„	zieml. häufig
19	häufig	häufig	häufig	zieml. häufig	häufig
20a	zieml. häufig	„	„	häufig	„
20b	sehr selten	„	„	selten	selten
21	selten	zieml. häufig	„	häufig	häufig
22	häufig	häufig	„	„	„
23a	sehr häufig	„	„	zieml. häufig	„
23b	häufig	„	„	„	„
24	sehr häufig	„	zieml. häufig	selten	„
25	häufig	„	häufig	„	„
26a	zieml. selten	„	„	häufig	„
26b	sehr häufig	„	„	„	„
27a	„	„	„	zieml. selten	„
27b	häufig	„	„	häufig	„
28	zieml. häufig	„	„	„	„
29	selten	„	„	zieml. selten	selten
30	häufig	zieml. häufig	sehr häufig	selten	„



Tabelle VIII. **Färbung nach Gram und nach Ernst-Neisser.**

Nr. d. Cultur	Färbung nach Gram					Ernst-Neisser
	Aussehen der Bacillen (Länge, Dicke)	Sogenannte Degenerationsformen	Art der Färbung			Isol. gefärbte Polkörnchen vorhanden
			Bacillen in toto gefärbt	Bacillen plasmolyt. gefärbt	Bac. blass, Polkörnch. dklblau gef.	
1	mittellang, schlank	spärlich	überwieg.	vereinzelt	—	spärlich
2a	zl. klein, „	„	ausnahmsl.	—	—	sehr spärlich [1]
2b	klein, dick	zl. zahlr., bizarr	überwieg.	vereinzelt	vereinzelt	„ „ [2]
3	mittellang, schlank	spärlich	„	„	—	häufig
4	lang, „	zahlreich	„	theilweise	vereinzelt	sehr häufig
5	bis mittellang, zl. dick	zl. zahlreich	„	vereinzelt	„	häufig
6a	kurz, dick	spärlich	ausnahmsl.	—	—	zl. häufig
6b	mittellang, schlank	selten	fehlen	ausnahmsl.	zahlreich	reichlich
7a	„ „	zahlreich	überwieg.	vereinzelt	—	zl. häufig
7b	„ „	„	„	„	—	„ „
8a	„ „	zl. zahlreich	selten	überwieg.	zahlreich	sehr häufig
8b	kurz, dick	„ „	überwieg.	selten	—	„ „
9a	lang, schlank	zahlreich	„	„	zl. zahlr.	häufig
9b	„ „	„	selten	überwieg.	zahlreich	„
10a	mittellang, „	selten	ausnahmsl.	—	—	sehr häufig
10b	kurz, dick	zahlreich	überwieg.	theilweise	—	„ „
11	mittellang, schlank	„	„	„	zahlreich	fehlen [3]
12	„ „	sehr spärlich	ausnahmsl.	—	—	zl. selten
13	kurz, dick	fehlen	„	—	—	fehlen [3]
14a	mittellang, „	häufig	überwieg.	theilweise	theilweise	häufig
14b	zl. lang, zl. dick	„	„	„	„	sehr häufig
15a	mittellang, schlank	„	„	„	„	spärlich
15b	lang, zl. dick	zl. spärlich	„	„	„	häufig
16	„ schlank	zahlr., bizarr	„	„	—	sehr häufig
17	bis mittellang, „	zl. zahlreich	„	„	—	häufig [4]
18	mittellang, dick	„ „	„	„	theilweise	fehlen [5]
19	„ „	zl. zahlr., bizarr	selten	überwieg.	zahlreich	häufig
20a	„ „	zl. zahlreich	zl. selten	„	„	reichlich
20b	„ „	„ „	überwieg.	vereinzelt	vereinzelt	sehr reichlich
21	lang, schlank	zahlreich	„	„	„	fehlen [6]
22	mittellang, zl. dick	„	„	selten	„	spärlich
23a	zl. lang, schlank	„	„	theilweise	theilweise	„
23b	lang, zl. dick	„	ausnahmsl.	—	—	reichlich
24	„ „ „	„	selten	überwieg.	vereinzelt	„
25	kurz, schlank	zl. zahlreich	„	„	theilweise	zl. reichlich
26a	lang, „	zahlreich	theilweise	„	zahlreich	„ „
26b	bis mittellang, dick	„	überwieg.	theilweise	theilweise	reichlich
27a	mittellang, zl. schlank	„	„	„	„	sehr reichlich
27b	„ schlank	„	„	„	selten	zl. reichlich
28	lang, dick	sehr zahlreich	„	„	theilweise	reichlich
29	mittellang, „	zahlreich	„	„	selten	zl. reichlich
30	sehr kurz, „	selten	„	selten	„	„ „

[1] Im 2. Präparat sehr selten. [2] Im 2. Präparat sehr reichlich. [3] Im 2. Präparat fehlen. [4] Im 2. Präparat häufig. [5] Im 2. Präparat ziemlich häufig. [6] Im 2. Präp. zieml. selten.

Tabelle IX.

Einfache Diphtheriebouilloneinspritzung

Nr. der Stamm-cultur	Verflossene Zeit seit d. Isolirung bis z. Thier-experiment Tage	Alter der Bouillon-cultur Tage	Menge der ein-gespritzten Bouillon-cultur ccm	Aussehen und Gewicht des Thieres	Nr. des Thieres	Resultat der Ein-spritzung	Obductionsbefund
I	88	15	0·5	weissgelb, 200 grm	1	Tod nach 36 bis 44 Stunden	Starke Infiltration, Oedem des Unterhautgewebes, beiderseitiges Pleuraexsudat, Nephritis, hämorrhagische Schwellung der Nebennieren
IIa	90	15	0·5	weiss mit gelben und schwarzen Flecken, ca. 200 grm	3	Tod nach 12 bis 20 Stunden	Infiltration, hämorrhagische Nebennieren. Pleurahöhlen frei. Aus der Oedemflüssigkeit sind kurze Diphtheriebacillen gewachsen
IIb	90	15	0·5	weiss und rothbraun, 200 grm	5	Tod nach 12 bis 20 Stunden	Keine Infiltration, Nebennieren hämorrhagisch. Milz geschwollen, Pleurahöhlen leer
III	95	15	0·5	braun und schwarz, ca. 200 grm	7	Tod nach 22 Stdn.	Starke Infiltration, beiderseitiges Pleuraexsudat. Nebennieren hämorrhagisch, stark geschwollen
IV	89	15	0·5	weiss, braun, schwarz, 200 grm	9	Tod nach 24 Stdn.	Hämorrhagische Infiltration des Unterhautgewebes, hämorrhagisch geschwollene Nebennieren, beiderseitiges Pleuraexsudat, grosse Milz. Aus der Infiltration sind Diphtheriebacillen gewachsen
V	114	15	0·5	schwarz-braun, ca. 200 grm	11	Tod nach 20 Stdn.	Infiltration, Nebennierenschwellung, Pleurahöhlen leer. Aus der Infiltrationsflüssigkeit sind 2 Arten Diphtheriebacillen gewachsen
VIa	106	9	0·5	falbenfarbig, 200 grm	13	Tod nach 19 Stdn.	Infiltration, Nebennierenschwellung, Pleurahöhlen etwas Exsudat. Auf Agar sind mittellange Diphtheriebacillen gewachsen
VIb	109	12	0·5	braun, schwarz, weiss, 200 grm	15	Tod nach 71 Stdn.	Geringe Infiltration, starke hämorrhagische Nebennierenschwellung, beiderseitiges Pleuraexsudat, hämorrhagische Infiltration des Dickdarmes



Thierexperimente.

Diphtheriebouillon- und Heilserumeinspritzung.

Nr. des Thieres	Aussehen und Gewicht des Thieres	Menge der Bouilloncultur und der gleichzeitig einverleibten Immunitätseinheiten	Resultat der Einspritzung	Bemerkungen
2	weiss, schwarz und gelb, ungefähr 200 grm	$0 \cdot 5^{ccm}$ + 125 I.-E.	Tod nach 6 Tagen	Bei der Section kein pathologischer Befund. Unterhautgewebe und Herzblut steril.
4	weiss und gelb, ca. 200 grm	desgl.	Lebt noch nach 20 Tagen und zeigt keine Veränderung	
6	weiss, schwarz und rothbraun, 180 grm	desgl.	Lebt noch nach 20 Tagen, keine Veränderung	
8	braun und weiss, ca. 200 grm	desgl.	Wird nicht krank und lebt noch nach 20 Tagen	
10	braun mit weissen und schwarzen Flecken, 200 grm	desgl.	Wird nicht krank, lebt noch nach 20 Tagen	
12	weissgelb, ca. 200 grm	desgl.	Zeigt keine Veränderung, bleibt am Leben nach 20 Tagen	
14	struppig, 200 grm	desgl.	Wird nicht krank, bleibt am Leben nach 20 Tagen	
16	braunschwarz, ca. 200 grm	desgl.	Wird nicht krank, lebt noch nach 20 Tagen	



Tabelle IX.

Einfache Diphtheriebouilloneinspritzung.

Nr. der Stamm-cultur	Verflossene Zeit seit d. Isolirung bis z. Thier-experiment Tage	Alter der Bouillon-cultur Tage	Menge der ein-gespritzten Bouillon-cultur ccm	Aussehen und Gewicht des Thieres	Nr. des Thieres	Resultat der Ein-spritzung	Obductionsbefund
VIIa	103	17	0·5	schwarz, weiss, braun, 200 grm	17	Tod nach 36 bis 44 Stunden	Hämorrhagische Infiltration des Unterhautgewebes und der Nebennieren, Nephritis, Pleuraexsudat beiderseits, Milz gross
VIIb	104	18	0·5	weiss, braun, schwarz, ca. 280 grm	19	Starke Infiltration. Nekrose der Haut. Heilung. Das Thier bleibt am Leben.	
	129	4	1·0	gelbweiss-schwarz, ca. 250 grm	63	Tod nach 46 Stdn.	Starkes Infiltrat, hämorrhagische Nebennierenschwellung, Pleuraexsudat beiderseits, Hyperämie der Darmwand
VIIIa	50	18	0·5	schwarz-weiss, ca. 300 grm	21	Tod nach 24 Stdn.	Infiltration, starkes beiderseitiges Pleuraexsudat, Nebennieren hämorrhagisch geschw., grosse Milz
VIIIb	50	18	0·5	braun-weiss, ca. 300 grm	23	Tod nach 32 Stdn.	Starke hämorrhagische, subcutane Infiltration, hämorrhagische Nebennierenentzündung, beiderseitiges Pleuraexsudat
IX	28	18	0·5	schwarz-weiss, 300 grm	25	Tod nach 30 Stdn.	Infiltration, hämorrhagische Nebennierenschwellung, Pleuraerguss beiderseits
Xa	26	16	0·5	schwarz, weiss, gelb, ca. 300 grm	27	Tod nach 26 Stdn.	Infiltration, hämorrhagische Nebennierenschwellung, Pleuraexsudat beiderseits
Xb	30	20	0·5	weiss, ca. 450 grm	29	Starke Infiltration, Nekr. der Haut, das Th. ist sehr krank. † n. 10 Tagen	Starkes Infiltrat, Nebennieren gross, nicht hämorrhagisch, kein Pleuraexsudat. Bakteriologisch Diphtheriebacillen in Reincultur
	38	5	0·5	weiss und schwarz, ca. 280 grm	43	Tod nach 23 Stdn.	Geringes Infiltrat, Hyperämie der Därme, Nebennieren nicht vergrössert. Pleuraexsudat nur rechts

(Fortsetzung.)

Diphtheriebouillon- und Heilserumeinspritzung.

Nr. des Thieres	Aussehen und Gewicht des Thieres	Menge der Bouilloncultur und der gleichzeitig einverleibten Immunitätseinheiten	Resultat der Einspritzung	Bemerkungen.
18	schwarzbraun, ca. 200grm	0·5ccm + 125 I.-E.	Tod nach 6 Tagen	Bei der Obduction keine Zeichen von Diphtherieinfection. Entero-colitis ulcerosa, Peritonitis perforativa.
20	weissbraun, ca. 280grm	desgl.	Tod nach 7 Tagen	Bei der Obduction keine Diphtheriezeichen. Pneumonia crouposa, Pleuritis et Pericarditis fibrinosa. Pneumokokken in Reincultur.
64	schwarzgelb, ca. 250grm	1·0ccm + 125 I.-E.	Zeigt keine Veränderung, bleibt am Leben	
22	weiss, ca. 300grm	0·5ccm + 125 I.-E.	Keine Veränderung, das Thier lebt noch nach 20 Tagen	
24	weissbraun, ca. 300grm	desgl.	Keine Störung, bleibt am Leben	
26	struppig	desgl.	Keine Störung, bleibt am Leben	
28	braunweiss	desgl.	Keine Störung, bleibt am Leben	
30	schwarz, weiss, braun, ca. 400grm	desgl.	Tod nach 14 Tagen an Pneumonie	Bei der Section keine Infiltration. Keine Nebennierenschwellung. Pneumonia massiva duplex, Hyperplasia follicularis lienis. Pneumokokkeninfection.
44	weiss, schwarz, gelb, ca. 280grm	desgl.	Keine Veränderung, bleibt am Leben	

Tabelle IX.

Einfache Diphtheriebouilloneinspritzung.

Nr. der Stamm-cultur	Verflossene Zeit seit d. Isolirung bis z. Thier-experiment Tage	Alter der Bouillon-cultur Tage	Menge der ein-gespritzten Bouillon-cultur ccm	Aussehen und Gewicht des Thieres	Nr. des Thieres	Resultat der Ein-spritzung	Obductionsbefund
XI	31	22	0·5	schwarz, braun, ca. 200 grm	31	Keine Veränderung. Das Thier bleibt am Leben	—
	39	5	0·5	weiss und schwarz, ca. 200 grm	45	Keine Veränderung, bleibt am Leben	—
	78	6	1·0 Bouillon von Martin[1]	hasengrau, ca. 250 grm	91	Keine Veränderung, bleibt am Leben	—
	103	6	5·0 Bouill. nach Martin	weiss, ca. 250 grm	101	Keine Veränderung, bleibt am Leben	—
XII	5	2	0·5	braunroth, ca. 250 grm	—	Tod nach 70 Stunden	Infiltration, hämorrhagische Schwellung der Nebennieren, Pleuraexsudat beiderseits
	142	19	0·5	weiss, schwarz, gelb, ca. 300 grm	33	Leichte Infiltration, Thier bleibt am Leben	—
	163	4	1·0	weiss, ca. 250 grm	65	Tod nach 11 Tagen	Schwartenförmige Infiltration, Nebennieren vergrössert, blutreich, Pleurahöhlen frei
	189	6	1·0 Bouill. nach Martin	braun-schwarz, ca. 250 grm	93	Leichte vorübergeh. Infiltrat. Thier bleibt am Leben	—
	222	10	5·0 Bouill. nach Martin	weiss, ca. 200 grm	103	Keine Veränderung	—

[1] Peptonbouillon nach Martin: A. a) Man nimmt frischen Schweinemagen (ohne
12 Stunden lang bei 50° C. verdauen; b) erwärmen auf 100° C., um das Pepsin zu zer-
besser aufzuklären, bei dieser Temperatur alkalisiren; e) sterilisiren bei 120° C.; f) filtriren
lösung A kann so benutzt werden oder besser wird sie mit gleichen Theilen Kalbsbouillon
lassen; 2·5 grm Kochsalz zusetzen. Die Mischung A und B wird entweder auf 70° erwärmt,
lauge zusetzen) und durch Thonerde filtriren, oder nur auf 120° C. sterilisiren. —

(Fortsetzung.)

Diphtheriebouillon- und Heilserumeinspritzung.

Nr. des Thieres	Aussehen und Gewicht des Thieres	Menge der Bouilloncultur und der gleichzeitig einverleibten Immunitätseinheiten	Resultat der Einspritzung	Bemerkungen
32	schwarz, braun u. weiss, ca. 200 grm	0·5 ccm + 125 I.-E.	Keine Veränderung; Thier bleibt am Leben	
46	weiss, gelb, ca. 400 grm	desgl.	Keine Veränderung	
92	hasengrau u. gelb, ca. 250 grm	1·0 ccm + 125 I.-E.	Keine Veränderung	
102	weiss, braun, ca. 250 grm	5·0 ccm + 125 I.-E.	Keine Veränderung	
—	—	—	—	Controlexperiment nicht gemacht; Pathogenitätsprüfg. vor der systematischen Bearbeitung der 30 Culturen am 18. XI. 97 vorgenommen.
34	schwarz, weiss, ca. 300 grm	0·5 ccm + 125 I.-E.	Keine Veränderung; bleibt am Leben	
66	weiss, braun, ca. 250 grm	1·0 ccm + 125 I.-E.	Keine Veränderung; Thier bleibt am Leben	
94	braun, weiss, ca. 250 grm	desgl.	Keine Veränderung; Thier bleibt am Leben	
104	schwarz, braun, ca. 200 grm	5·0 ccm + 125 I.-E.	Keine Veränderung	

Serosa) gehackt 100 grm, Salzsäure 5 grm, Wasser auf 50° C. erwärmt 500 ccm und lässt stören; c) filtriren durch Watte; d) wieder auf 80° C. erwärmen und, um die Flüssigkeit durch Papier, in Culturflaschen vertheilen und g) wieder bei 115° sterilisiren. Diese Pepton-gemischt. Dazu B. Kalbfleisch 250 grm, Wasser 500 ccm bei 35° C. 20 Stunden lang maceriren alkalisirt nach Park und Williams (nach Neutralisiren 7 ccm pro Mille normale Natron-



Tabelle IX.

Einfache Diphtheriebouilloneinspritzung.

Nr. der Stamm-cultur	Verflossene Zeit seit d. Isolirung bis z. Thier-experiment Tage	Alter der Bouillon-cultur Tage	Menge der ein-gespritzten Bouillon-cultur ccm	Aussehen und Gewicht des Thieres	Nr. des Thieres	Resultat der Ein-spritzung	Obductionsbefund
XIII	22	20	0·5	braun, schwarz, ca. 200 grm	35	Keine Ver-änderung. Thier lebt	—
	41	3	0·5	schwarz, weiss, ca. 250 grm	57	Keine Ver-änderung	—
	69	6	1·0 Bouill. nach Martin	braun, ca. 250 grm	95	Keine Ver-änderung	—
XIV a	105	17	0·5	braun, weiss, ca. 280 grm	37	Tod nach 20 Stunden	Starkes Infiltrat, geringe hämorrhagische Nebennierenschwellung, beide Pleurahöhlen frei
XIV b	113	5	0·5	weiss, braun, schwarz, ca. 250 grm	39	Tod nach etwa 36 Stunden	Starkes hämorrhagisches Infiltrat, Hyperämie des Darmes, starke hämorrhagische Schwellung der Nebennieren, beiderseits Pleuraexsudat
XV	24	15	0·5	gelb, weiss, ca. 250 grm	41	Tod nach 47 Stunden	Sehr starkes, wässeriges Infiltrat, wässerige hämorrhagische Nebennierenschwellung, starkes Pleuraexsudat beiderseits
XVI	44	3	0·5	weiss, gelbbraun, ca. 250 grm	59	Tod nach 27 bis 34 Stunden	Infiltrat, hämorrhagische Nebennierenschwellung, hämorrhagische Nephritis, Pleuraexsudat beiderseits
XVII	44	3	0·5	schwarz, weiss, ca. 250 grm	61	Keine Ver-änderung	—
	72	6	1·0 Bouill. nach Martin	gelb, schwarz, ca. 300 grm	97	Keine Ver-änderung	—
	100	10	5·0 Bouill. nach Martin	weiss, gelb, ca. 300 grm	105	Keine Ver-änderung	—
XVIII	53	6	1·0	weiss, ca. 300 grm	67	Keine Ver-änderung	—
	69	6	1·0 Bouill. nach Martin	schwarz, braun, ca. 300 grm	99	Keine Ver-änderung	—



(Fortsetzung.)

Diphtheriebouillon- und Heilserumeinspritzung.

Nr. des Thieres	Aussehen und Gewicht des Thieres	Menge der Bouilloncultur und der gleichzeitig einverleibten Immunitätseinheiten	Resultat der Einspritzung	Bemerkungen
36	braun, weiss, ca. 200 grm	0·5 ccm + 125 I.-E.	Keine Veränderung	
58	schwarz, weiss u. gelb, ca. 250 grm	desgl.	Keine Veränderung	
96	braun, weiss, ca. 250 grm	1·0 ccm + 125 I.-E.	Keine Veränderung	
38	schwarz, weiss, ca. 250 grm	0·5 ccm + 125 I.-E.	Keine Veränderung	
40	braun, schwarz, ca. 250 grm	desgl.	Keine Veränderung	
42	gelb, ca. 250 grm	desgl.	Keine Veränderung	
60	weiss, ca. 250 grm	desgl.	Keine Veränderung	
62	schwarz, braun, weiss, ca. 250 grm	desgl.	Keine Veränderung	
98	gelb, schwarz, braun, ca. 300 grm	1·0 ccm + 125 I.-E.	Keine Veränderung	
106	weiss, schwarz, ca. 300 grm	5·0 ccm + 125 I.-E.	Keine Veränderung	
68	schwarz, weiss, ca. 300 grm	1·0 ccm + 125 I.-E.	Keine Veränderung	
100	gelb, weiss, ca. 300 grm	desgl.	Keine Veränderung	



Tabelle IX.

Einfache Diphtheriebouilloneinspritzung.

Nr. der Stamm-cultur	Verflossene Zeit seit d. Isolirung bis z. Thier-experiment Tage	Alter der Bouillon-cultur Tage	Menge der ein-gespritzten Bouillon-cultur ccm	Aussehen und Gewicht des Thieres	Nr. des Thieres	Resultat der Ein-spritzung	Obductionsbefund
XVIII	96	10	5·0 Bouillon nach Martin	braun, weiss, ca. 300 grm	107	Keine Veränderung	—
XIX	53	6	0·5	schwarz, ca. 300 grm	69	Tod nach 25 Stunden	Starkes sulziges Infiltrat, Nebennieren hämorrhagisch, Pleurahöhlen frei. Culturell Diphtheriebacillen
XX a	54	6	0·5	weiss, gelb, ca. 250 grm	71	Tod nach 24 Stunden	Starkes gelatinöses Infiltrat, hyperämische Nebennieren und Darmwände, Pleurahöhlen leer. Culturell Diphtheriebacillen
XX b	54	6	0·5	schwarz, weiss, ca. 250 grm	73	Tod nach 20 Stunden	Starke gelatinöse Infiltration, Hyperämie der Nebennieren, besond. rechts, Hyperämie der Darmwände, Pleurahöhlen beiderseits frei. Diphtheriebacillen in Reincultur
XXI	Vom hygienischen Institut	6	0·5	schwarz, ca. 250 grm	75	Tod nach 28 bis 36 Stunden	Starke hämorrhagische Infiltration, hämorrhagische Nebennierenschwellung, geringes beiderseitiges Pleuraexsudat. Diphtheriebacillen in Reincultur gewachsen
XXII	55	5	1·0	gelb, weiss, ca. 250 grm	77	Tod nach 28 bis 36 Stunden	Mässiges Oedem der Impfstelle, hämorrhagische Nebennierenschwellung, Pleurahöhlen frei
XXIII a	53	5	0·5	schwarz, weiss, ca. 250 grm	79	Tod nach 28 bis 36 Stunden	Oedem der Impfstelle, hämorrhagische Nebennierenschwellung, Pleurahöhlen frei
XXIII b	53	5	0·5	schwarz, braun, ca. 300 grm	81	Tod nach 24 Stunden	Starke hämorrhagische Infiltration, hämorrhagische Nebennierenschwellung. Kein Exsudat
XXIV	54	5	0·5	schwarz, weiss, ca. 300 grm	83	Tod nach 28 bis 36 Stunden	Starkes hämorrhagisches Infiltrat, hämorrhagische Nebennierenschwellung, beiderseitiges reichliches Pleuraexsudat

(Fortsetzung.)

Diphtheriebouillon- und Heilserumeinspritzung.

Nr. des Thieres	Aussehen und Gewicht des Thieres	Menge der Bouilloncultur und der gleichzeitig einverleibten Immunitätseinheiten	Resultat der Einspritzung	Bemerkungen
108	schwarz, braun, ca. 300 grm	5·0 ccm + 125 I.-E.	Keine Veränderung	
70	schwarz, weiss, ca. 300 grm	0·5 ccm + 125 I.-E.	Keine Veränderung; Thier bleibt am Leben	
72	weiss, schwarz, ca. 250 grm	desgl.	Keine Veränderung; bleibt am Leben	
74	schwarz, weiss und braun, ca. 250 grm	desgl.	Keine Veränderung; bleibt am Leben	
76	schwarz, braun, ca. 250 grm	desgl.	Keine Veränderung	
78	schwarz, gelb, ca. 250 grm	1·0 ccm + 125 I.-E.	Keine Veränderung	
80	schwarz, weiss und braun, ca. 250 grm	0·5 ccm + 125 I.-E.	Kein Erkrankungszeichen; Thier bleibt am Leben	
82	schwarz, weiss, ca. 300 grm	desgl.	Kein Erkrankungszeichen; bleibt am Leben	
84	schwarz, braun, ca. 300 grm	desgl.	Keine Veränderung; Thier bleibt am Leben	

Tabelle IX.

Einfache Diphtheriebouilloneinspritzung.

Nr. der Stamm-cultur	Verflossene Zeit seit d. Isolirung bis z. Thier-experiment Tage	Alter der Bouillon-cultur Tage	Menge der ein-gespritzten Bouillon-cultur ccm	Aussehen und Gewicht des Thieres	Nr. des Thieres	Resultat der Ein-spritzung	Obductionsbefund
XXV	51	5	0·5	schwarz, gelb, ca. 300 grm	85	Tod nach 28 bis 36 Stunden	Oedem der Impfstelle, hämorrhagische Nebennierenschwellung, beiderseitiges Pleuraexsudat
XXVIa	54	5	1·0 schlecht gewachsen	schwarz, gelb, ca. 300 grm	87	Starke Infiltration der Haut. Thier bleibt jedoch am Leben	—
	81	6	5·0 Bouill. nach Martin	weiss, ca. 300 grm	109	Tod nach 40 Stunden	Hämorrhagisch. Infiltrat, hämorrhagische Nebennierenschwellung, Pleuraerguss beiderseits
XXVIb	54	7	1·0	schwarz, weiss, ca. 350 grm	89	Infiltration, Nekr. der Haut, Heilung	—
	81	9	5·0 Bouill. nach Martin	weiss, schwarz, ca. 320 grm	111	Tod nach 24 Stunden	Starke Infiltration, hämorrhagische Nebennierenschwellung, Pleuraexsudat beiderseits
XXVIIa	19	3	0·5	schwarz, gelb, ca. 250 grm	53	Tod nach 23 Stunden	Infiltrat, Nebennierenschwellung, Pleurahöhle frei
XXVIIb	19	3	0·5	schwarz, weiss, ca. 250 grm	55	Tod nach 22 Stunden	Infiltrat, hämorrhagische Nebennierenschwellung. Pleuraexsudat beiderseits
XXVIII	17	11	0·5	schwarz, gelb, ca. 300 grm	51	Tod nach 26 bis 34 Stunden	Infiltration, hämorrhagische Nebennierenschwellung, Pleurahöhle frei
XXIX	17	8	0·5	schwarz, gelb, weiss, ca. 250 grm	49	Tod nach 26 bis 34 Stunden	Hämorrhagische Infiltration, hämorrhagische Nebennierenschwellung. Pleuraexsudat beiderseits
XXX	18	14	0·5	gelb, weiss, ca. 250 grm	47	Tod nach 26 bis 34 Stunden	Starkes ödematöses Infiltrat, Nebennieren gross, hyperämisch, starkes Pleuraexsudat beiderseits

(Fortsetzung.)

Diphtheriebouillon- und Heilserumeinspritzung.

Nr. des Thieres	Aussehen und Gewicht des Thieres	Menge der Bouilloncultur und der gleichzeitig einverleibten Immunitätseinheiten	Resultat der Einspritzung	Bemerkungen
86	schwarz, gelb, weiss, ca. 300 grm	0·5 ccm + 125 I.-E.	Keine Veränderung	
88	schwarz, gelb, ca. 300 grm	1·0 ccm + 125 I.-E.	Keine Infiltration, kein Erkrankungszeichen	
110	weiss, schwarz, ca. 300 grm	5·0 ccm + 125 I.-E.	Kein Erkrankungszeichen; Thier bleibt am Leben	
90	gelb, weiss, ca. 350 grm	1·0 ccm + 125 I.-E.	Keine Veränderung	
112	weiss, schwarz, gelb, ca. 300 grm	5·0 ccm + 250 I.-E.	Keine Veränderung	
54	schwarz, weiss, ca. 250 grm	0·5 ccm + 125 I.-E.	Keine Veränderung	
56	schwarz, gelb, ca. 250 grm	desgl.	Keine Veränderung	
52	gelb, weiss, ca. 300 grm	desgl.	Keine Veränderung	
50	weiss, gelb, ca. 250 grm	0·5 ccm + 100 I.-E.	Keine Veränderung	
48	weiss, ca. 250 grm	0·5 ccm + 75 I.-E.	Keine Veränderung	

Ueber Diphtheriebacillen und Diphtherie in Scharlachabtheilungen.

Von

Prof. **Soerensen,**
ärztlichem Director des Blegdomspitales in Kopenhagen.

I.

Dass echte Diphtherie bei Scharlachreconvalescenten nicht selten vorkomme, wird seit längerer Zeit allgemein angenommen. Erst die modernen bakteriologischen Untersuchungsmethoden haben es aber ermöglicht, die Häufigkeit dieser Complication festzustellen; in früherer Zeit war die Trennung der leichten Diphtherieen von den nicht-bacillären — pseudomembranösen oder einfachen — Anginen mit unbesiegbaren Schwierigkeiten verbunden.

Durch die genannten Methoden haben wir weiter diphtherieähnliche Entzündungen ohne Bacillen und Fälle mit Diphtheriebacillen ohne krankhafte Veränderungen im Schlunde kennen gelernt. Ueber die Häufigkeit der letztgenannten Fälle unter verschiedenen Verhältnissen und ihre Beziehungen zu den klinischen Diphtherieen wissen wir aber noch wenig.

Um den letzten Punkt bei Scharlachreconvalescenten zu beleuchten, haben wir seit Mitte des Jahres 1895 nicht nur alle Reconvalescenten, die Schlingbeschwerden oder irgend welche Auflagerungen im Schlunde darboten, sondern auch alle ein- und ausgehenden Scharlachfälle, jeden auf eine andere Abtheilung zu verlegenden Reconvalescenten, und von Zeit zu Zeit auch alle Patienten in den verschiedenen Pavillons und Baracken auf Diphtheriebacillen untersucht.

Diese Untersuchungen werden noch fortgesetzt; um mich eines Theiles des Materiales zu entledigen, habe ich aber die Resultate der zwei ersten Versuchsjahre — Sommer 1895 bis Sommer 1897 — in der folgenden Mittheilung zusammengestellt.



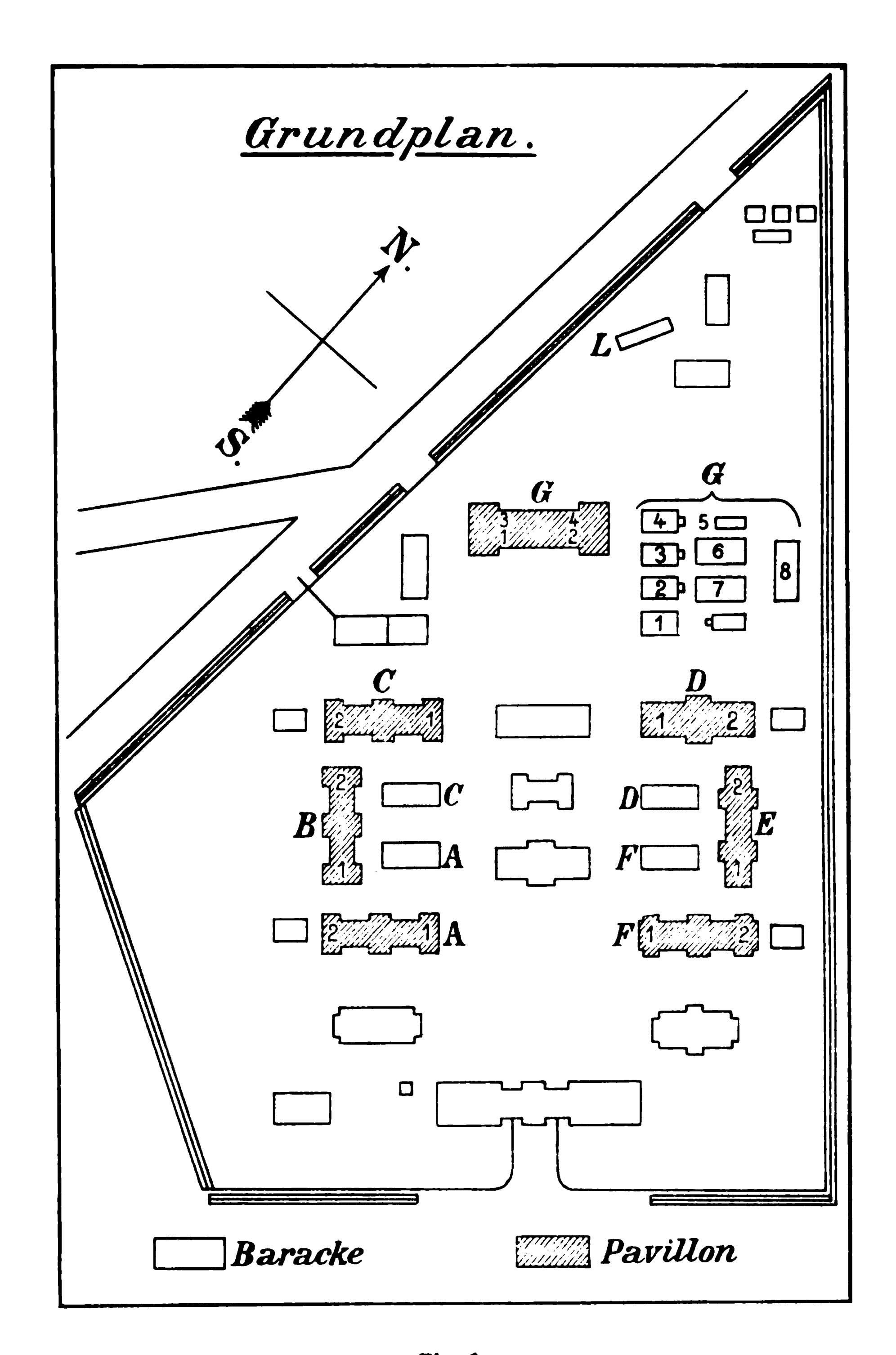

Grundplan.
N.
S.
L
G
G
4
5
3
6
2
7
1
8
C
D
2
1
1
2
C
D
B
E
A
F
A
F
Baracke
Pavillon

Fig. 1.

Fig. 2.

	1895. Juni	Juli	August	September	October	November	December	1896. Januar	Februar	März	April	Mai	Juni
F/II		10. (‖)			[11. 13. 21.]		80 Pt.	[20]		27. 30.	v. 28. ‖ von allen 16 Kr.	18 Pt.	6.
G/I	v. 25. 7 von allen 18 Kr.	6		v.v. v. 6.9. 18. 4 (‖)(‖) (‖)	34 Pt.	16. 19.	von 19	v. v. v. v. 1. 13.24.26.30. ( ) ‖ Δ 7 (‖) all. Kr ‖	57 Pt.		v. v.v. v. 2. 6.9.18. ‖ ‖ ‖ 2 15		
G/II				23 Pt.	[20.] 6. 9.	[6. 11.] 20 Pt.	14. 30.	auf dem Isolirzimmer v. 18. (‖)	61 Pt.	v. 4.[7.] 26.30. ‖ 2 v. all. 17Kr ‖ nur 1 früh. inf. Fall noch D.B.	15.	4. 9. Δ 6	alle 6 Kr. nach der Baracke F verlegt, bevor das Resultat der Abimpfg. vorlag.
F/I		v. 27. 15.		v. v. 24.26.30. Δ 5 (‖) (‖)	32 Pt,	2. [5.] Δ 14 9. 11.	v. v. d. 27. 22.23. 26. 23 Pt. ¶ 2 ¶ von allen 17 Kr.	7. 21. ‖ ‖22. 29.	[6] 24 Pt.	[2. 4. 9.10.] 12. [17. 31.] ‖ von allen 18 Kr.	8.		
Bar.F		20.		21 Pt.	26.	v. 14.17.22. 9. ¶ 4 2 von allen 11 Kr.	12 Pt. 11. 28. † 4 früher inf. Fälle	18. Δ 8 36 Pt.	5. 11.19.27. ‖ ‖ ‖ ‖	3. 10. ( ) ‖ 28.	4. 15 Pt. 18. 30.	v. v. 9. 18. ( ) 36 Pt.	entlassen 2. 4. ‖ Δ 10 13.

¶ = Fälle von Diphtherie }
‖ = „ mit D.B. } Die Klammern bezeichnen damit zugegangene, aufgenommene oder verlegte Fälle.

[] = Coccusaffectionen. Δ = bez. dass alle Kranke, deren Zahl die unten stehende Chiffre angiebt, frei von Bacillen waren. v. = verlegt.

Innerhalb des genannten Zeitraumes nimmt eine kurze erste Periode, wo aussergewöhnliche Verhältnisse obwalteten, eine Sonderstellung ein. Die grosse Scharlachepidemie, welche in den Jahren 1893 und 1894 Kopenhagen heimgesucht hatte, näherte sich zwar am Anfange des Jahres 1895 ihrem Ende und war demzufolge die Krankenzahl im Spitale damals in schneller Abnahme begriffen, aber erst im Laufe des Sommers wurde die Reinigung und Aufputzung der lange Zeit hindurch überfüllten Krankenlocale durchgeführt. Als diese Untersuchungen begannen, arbeiteten wir demnach zum grossen Theile mit schmutzigen Abtheilungen, in welchen in der letzten Zeit Diphtheriefälle mehrmals vorgekommen waren. In der übrigen Versuchsperiode standen dagegen immer gereinigte und restaurirte Krankenlocale zur Disposition, alle aufgenommenen und verlegten Kranken wurden auf Diphtheriebacillen untersucht, auch war gleichzeitig in Kopenhagen die Diphtherie in schneller Abnahme begriffen.

Die Lage der im genannten Zeitraume für Scharlach angewendeten Pavillons und Baracken — die doch nicht alle gleichzeitig im Gebrauch waren — giebt die vorstehende Fig. 1 an. Extraordinäre, nur während der erwähnten Epidemie gebrauchte Krankenlocale sind die Baracken G 1 bis 8.

Zur Beleuchtung der getroffenen Verhältnisse dienen die folgenden Beispiele, welche an der vorstehenden Fig. 2 am leichtesten übersehen werden können.

Beispiel I. In der Abtheilung F/I, in welcher im Zeitraume 1. VII. 1895 bis 27. III. 1896 80 Kranke behandelt wurden, zeigte gleich am Beginne der Campagne ein neu Aufgenommener D.-B. und wurde deshalb evacuirt. Später kamen 4 Coccusaffectionen (3 Mal Flecke, 1 Mal weissliche Verfärbung), aber kein Fall mit D.-B. vor.

Nachdem das Local 3 Tage gelüftet war, wurde es wieder in Gebrauch gezogen und bis 6. VI. 18 Kranke daselbst behandelt. Am 28. IV. gab die Abimpfung aller 16 Kranken D.-B. bei einem, der verlegt wurde; die Anderen blieben frei von Bacillen.

Beispiel II. In der Abtheilung G/I gab am Anfange dieser Untersuchung, die am 25. VI. 1895 vorgenommene Abimpfung aller 18 Kranken D.-B. bei 7, welche evacuirt wurden. Am 6. VII. wurden die zurückgebliebenen 10 Kranken (einer rein entlassen) auf andere inficirte Abtheilungen verlegt und das Local geschlossen.

Nachdem es rein gemacht war, wurde es am 4. IX. wieder geöffnet und in der folgenden Campagne 34 Kranke aufgenommen. Unter diesen zeigten 3 bei der Aufnahme D.-B., dennoch blieben alle die übrigen rein, und am 16. XI. wurden die letzten 4 Kranken auf eine andere Abtheilung verlegt.

Nach 3 tägiger Lüftung wurde das Local wieder in Gebrauch genommen und bis zum 15. IV. 1896 56 Kranke daselbst behandelt. Am 1. I. gab die Abimpfung aller 19 Patienten D.-B. bei 1, welcher evacuirt wurde, am 24. I. zeigte noch 1 D.-B. (evacuirt),[1] am 26. I. wurden alle 7 Kranken in der Abtheilung rein gefunden. Am 30. I. zeigte ein neu Aufgenommener D.-B. und wurde evacuirt, am 2. IV. waren von 33 nach dem 26. I. aufgenommenen Kranken 23 rein entlassen und unter den 9 restirenden zeigte dann 1 D.-B. Am 6. IV. und 9. IV. kamen an jedem Tage noch 1, am 13. IV. noch 2 solche Fälle hinzu, welche alle gleich evacuirt wurden.[2] Am 15. IV. waren die zurückgebliebenen 4 Fälle frei von Bacillen und wurden auf die Abtheilung G/II verlegt.

Beispiel III. In der Abtheilung G/II wurden im Zeitraume vom 1. VIII. bis 14. XII. 1895 43 Patienten behandelt, unter welchen 3 Coccusanginen, aber kein Fall mit D.-B. entstand. In dem rein gemachten Locale wurden vom 30. XII. 1895 bis zum 9. V. 1896 61 Kranke behandelt, unter welchen ein neu Aufgenommener am 18. I. D.-B. darbot. Am 4. III.[3] zeigte 1 Kranker auf dem Saale D.-B. und wurde ebenso wie früher genannter gleich evacuirt; am 7. III. gab die Untersuchung aller 17 Kranken D.-B. bei 2, die im Saale verblieben. Am 26. III. zeigte die Abimpfung aller 11 Kranken (8 rein entlassen, 2 zugekommen) Bacillen nur bei Einem der früher inficirten. Am 30. III. wurden bei 1 Kranken D.-B. (nur in der Nase) gefunden, am 15. IV. gab die Abimpfung aller 13 Kranken (5 rein entlassen, 7 zugekommen) Bacillen nur beim Obengenannten — dieses Mal nur im Schlunde —, am 4. V. wurden alle 6 zurückgebliebenen Kranken rein gefunden, am 9. V. zeigte 1 unter diesen D.-B.

Beispiel IV. In der am 15. VII. 1895 geöffneten Abtheilung F/I wurden bis zum 1. IX. 17 Kranke aufgenommen, unter welchen 1 am 27. VII. D.-B. darbot (evacuirt). Am 24. IX. waren 11 Kranke rein entlassen und die zurückbleibenden 5 frei von Bacillen. Unter 15 später

---

[1] Das Entstehen dieses Falles ist auch dadurch zu erklären, dass ein Anfangs zweifelhafter Fall, welcher sich später als Diphtherie herausstellte, am 13. I. bis 14. I. im Isolirzimmer der Abtheilung lag.

[2] Als Ursache dieser kleinen Endemie liegen 3 Möglichkeiten vor: 1. der am 30. I. aufgenommene Fall mit Diphtheriebacillen, gegen welche Möglichkeit die lange Zwischenzeit ohne D.-B.-Fälle spricht; 2. derselbe am 17. III. zurückgekehrte Fall, gegen welche Annahme aber spricht, dass derselbe 2 Mal vor, 3 Mal nach der Rückkehr frei von Bacillen (NB. im Schlunde) gefunden wurde; 3. die D.-B.-Fälle im März in der Nachbarabtheilung G/II (siehe das folgende Beispiel).

[3] Im Zeitraum vom 18. I. bis 4. III. waren 5 Kranke rein entlassen, sonst keine Abimpfung vorgenommen.



zugekommenen Kranken zeigten 2 bei der Aufnahme (am 26. IX. und 30. IX.) D.-B., und wurde der Eine sofort, der Andere nach 3 tägigem Aufenthalt im Isolirzimmer evacuirt. Am 2. XI. wurden alle 14 Patienten rein gefunden, am 5. XI. zeigte 1 einige Retentionsflecke im Schlunde ohne Bacillen, am 9. XI. wurde die Abtheilung geschlossen.

Nach 2 tägiger Auslüftung wurde die Abtheilung am 11. XI. wieder geöffnet und bis zum 22. I. 1896 23 Kranke daselbst behandelt. Am 22. XII. zeigte ein Kind leichte Croupfälle und D.-B. (evacuirt), und die selben Tags vorgenommene Abimpfung aller 17 Kranken gab D.-B. bei 2, von welchen der Eine an chronischem Schnupfen litt. Am 26. XII. zeigte 1 Kranker Diphtherie und wurde nebst dem Letztgenannten verlegt, am 7. I. und 21. I. zeigten noch 2 Kranke D.-B., am 22. I. wurde das Local geschlossen.

Nachdem es rein gemacht war, wurde es am 29. I. 1896 wieder geöffnet und bis zum 8. IV. 24 Kranke dort behandelt. Zwischen dem 6. II. und 10. III. zeigten 5 Kranke Coccusanginen, am 12. III. gab die Abimpfung aller 18 Kranken bei 1 Kokken und einzelne, D.-B. ähnliche Stäbchen. Am 13. III. zeigte dieser Kranke nur Kokken, am 30. III. D.-B., und wurde dann evacuirt. Am 17. III. und 31. III. kamen noch 2 Coccusanginen hinzu, am 8. IV. waren 20 Kranke rein entlassen, die 3 zurückgebliebenen auch frei von Bacillen und wurden diese auf die Abtheilung G/II verlegt und das Local geschlossen.

Beispiel V. Vom 20. VII. bis 26. X. 1895 wurde die Baracke F als Station für die mit Tussis convulsiva complicirten Scharlachfälle angewendet. In dieser Campagne trat unter 21 Kranken kein Fall mit D.-B. auf.

Nach Reinigung derselben wurde sie am 9. XI. mit 12 reinen Reconvalescenten aus der früher erwähnten Abtheilung F/I belegt. Am 14. XI. zeigte 1 von diesen Diphtherie und wurde evacuirt; am 17. XI. gab die Abimpfung aller 11 Kranken D.-B. bei 4, die in der Baracke verblieben. Am 22. XI. wurden wieder alle 10 Patienten (1 rein entlassen) untersucht und D.-B. bei noch 2 gefunden. Am 28. XI. kamen aus der Abtheilung D/I 3 reine und 4 mit D.-B. inficirte Kranke (darunter der obengenannte, welcher am 12. XI. Diphtherie zeigte) hinzu; am 11. XII. waren 8 Bacillkranke zurück, die übrigen (darunter die frühere Diphtherie) rein entlassen, und am selben Tage wurde die Baracke geschlossen.

Am 28. XII. wurde die rein gemachte Baracke wieder mit 11 reinen Reconvalescenten aus der Abtheilung F/II und später mit 8 ähnlichen aus G/II belegt. Am 18. I. waren von diesen 11 rein entlassen und die restirenden 8 auch frei von Bacillen. Am 18. und 19. Januar kamen 11

reine Reconvalescenten aus G/II[1] hinzu und am 5. II., 11. II., 19. II. und 27. II. zeigten 4 Kranke, die nicht verlegt wurden, D.-B. Später kamen 9 Fälle, darunter 1 mit Bacillen, hinzu, und entstanden in der Baracke noch 2 Bacillfälle. Am 28. III. waren aber alle diese Kranken rein entlassen bis auf 3, welche auch frei von Bacillen waren, und selben Tags wurde die Baracke geschlossen.

Nach Reinigung wurde dieselbe am 4. IV. wieder in Gebrauch gezogen und bis zum 18. IV. 15 Kranke hierselbst behandelt. Diese blieben alle rein.

Nach Auslüften derselben wurde die Baracke am 30. IV. wieder geöffnet und waren bis zum 13. VI. 36 Kranke daselbst unter Behandlung. Am 9. V. wurden 6 Kranke aus der Abtheilung G/II dahin verlegt, bevor das Resultat der stattgefundenen Abimpfung vorlag. Trotzdem, dass diese am 4. V. alle rein gefunden waren, zeigte jetzt 1 Bacillen und wurde evacuirt. Am 18. V. zeigte noch 1 dieser Kranken D.-B. (evacuirt) und am 2. VI. entstand 1 weiterer Fall in der Baracke; am 4. VI. waren aber alle 10 Pfleglinge rein und am 13. VI. wurden die 3 restirenden reinen Kranken auf die Abtheilung G/II verlegt und die Baracke geschlossen.

In der Campagne 9. XI. bis 11. 12. 1895 waren hier die Verhältnisse denjenigen ähnlich, welche in den schmutzigen Abtheilungen am Anfange dieser Untersuchung getroffen wurden.

Ein Beispiel davon ist schon angeführt (Abtheilung G/I-Campagne geendet am 6. VII. 1895); weitere Beispiele sind die folgenden.

Beispiel VI. In der Baracke G/VIII, wo am 3. VII. und 8. VII. diphtheritische Anginen vorgekommen waren, gab die am 9. VII. vorgenommene Abimpfung der restirenden 9 Patienten D.-B. bei 5. Am 9. VII. Abends, bevor noch das Resultat der Impfung vorlag, zeigte 1 unter diesen Fieber und Drüsenschwellung am Halse und am 11. VII. früh wurde ein Fleck im Schlunde constatirt; am 10. V. zeigte noch 1 der 5 Kranken weissliche Punkte im Schlunde und Abends war die Temperatur auf 40·1 gestiegen. Am 11. V. wurden diese beiden evacuirt, die restirenden 7 Kranken gleichzeitig auf die Baracke G/II verlegt und das Local geschlossen.

Beispiel VII. In der Baracke G/II hatte die am 10. VII. vorgekommene Untersuchung bei 4 von 6 Kranken D.-B. gezeigt. Ausser den obengenannten 7 wurden später mehrere Kranke aus anderen inficirten Abtheilungen dorthin verlegt, und von den 2 Kranken der Baracke, die am 10. VII. keine Bacillen zeigten, wurde später noch 1, von den

[1] Wo ein am 18. I. aufgenommener Kranker am 19. I. Bacillen darbot.



4 bacillfreien Kranken aus der Baracke G/VIII noch 2 mit Bacillen inficirt. Unter den 15 (9 und 6) Kranken in den erwähnten Localen blieben somit nur 3 frei von Bacillen. An Diphtherie erkrankten aber nur die obengenannten 2.

Einen Ueberblick über die Zahl von Diphtherieen, Fällen mit Diphtheriebacillen ohne Diphtherie (Bacillfällen) und Coccusaffectionen (Anginen mit und ohne Belege, Auflagerungen ohne Schlundbeschwerden) in den verschiedenen Krankenlocalen und den einzelnen Campagnen in diesen giebt die folgende Zusammenstellung.

Bei dieser ist zu erinnern, dass die Kranken ebenso viel Mal aufgeführt sind, als sie von einer Abtheilung auf eine andere verlegt wurden. Weil die frischen Fälle immer in den Pavillons aufgenommen wurden, figuriren so alle die in den Baracken behandelten Kranken 2 Mal.

Obgleich das Spital am Anfange dieser Untersuchung ca. 150, am Schlusse derselben ca. 80 Scharlachkranke beherbergte und 1547 in der zwischenliegenden Periode aufgenommen wurden, darf die Zahl der hier behandelten Kranken doch nicht höher als auf ca. 1500 angeschlagen werden. Einige fallen nämlich aus, weil die betreffende Abtheilung bald nach dem Beginne dieser Untersuchung geschlossen wurde; andere zählen nicht mit, weil die betreffende Campagne beim Schlusse dieser Untersuchung nicht beendet war. Da unsere Scharlachkranken erst nach 8 Wochen entlassen werden, giebt die genannte Krankenzahl eine Durchschnittsbelegung während dieser Untersuchungsperiode von ca. 112.

Unter diesen kamen vor:

1. Versuchsjahr.

	Zahl der Behandelten	Zeiträume	Neu aufgenommen. mit D.-B.	Im Spitale entstandene D.-B.-Fälle	Im Spitale entstandene Diphtherie u. Coccusaffectionen	
Baracke G/III	(21)[1]	21. V. bis 2. VIII. 95.	—	2	3	
„ G/VI	33÷1[2]	14. VI. „ 21. VIII. „	1	3	1	
Abtheilung G/I	(18)	25. VI. „ 6. VII. „	—	7	0	
	34÷3	4. IX. „ 6. XI. „	3	0	0	
	57÷1	19. XI. „ 15. IV. 96.	1	7	0	
Baracke G/VII	18	20. VI. „ 17. VIII. 95.	0	3	0	2
Abtheilung F/II	98÷1	1. VII. „ 6. VI. 96.	1	1	0	4

[1] Die eingeklammerten Zahlen beziehen sich auf die in schon längere Zeit gebrauchten Localen nach dem Beginn dieser Untersuchung behandelten Kranken.

[2] ÷ bezieht sich auf die gleich evacuirten Fälle mit D.-B.





(Fortsetzung.)

	Zahl der Behandelten	Zeiträume	Neu aufgenommen mit D.-B.	Im Spitale entstandene D.-B.-Fälle	Diphtherieen	Coccus-affectionen
Baracke G/VIII	(11)	3.VII. bis 12.VII. 95.		3	4[1]	
	13	20.VII. „ 9.VIII.	0	0	1 (†)	1
„ G/II	(9)+[2]	10.VII. „ 10.VIII.		4	0	
„ D	(6)	16.VII. „ 20.VII.		2	0	
	18÷1	27.VII. „ 7.IX.	[1][4]	6	0	
	43	16.X. „ 18.III. 96.	0	2	1 + 1 Dienstmäd.	0
	44	25.III. „ 15.VI. 96.	0	0	0	1
Abtheilung G/II	43	1.VIII. „ 14.XII. 95.	0	0	0	3
	61÷1	30.XII. „ 9.V. 96.	1	5	0	1
„ G/IV	24	12.VIII. „ 16.X. 95.	0	0	0	6
	58	22.X. „ 3.III. 96.	1	9	0	6
Baracke G/I	27	6.X. „ 17.XII.	0	1	0	0
Abtheilung F/I	32÷2	15.VII. „ 9.XI.	2	1	0	1
	23	11.XI. „ 22.I.	0	4	2	0
	24	29.I. „ 8.IV.	0	1	0	7
„ D/II	50	27.VII. „ 13.I.	0	7	2	3
	39	15.II. „ 27.VI.	0	1	0	2
„ G/III	29÷1	13.IX. „ 21.XI.	1	8	1	4
	34÷2	2.XII. „ 19.II.	2	7	0	2
	44	2.III. „ 13.V.	0	1	0	0
Baracke F	21	20.VII. „ 26.X.[3]	0	0	0	0
	12 +	9.XI. „ 11.XII.	0	6	1	0
	30	28.XII. „ 28.III.	[1][4]	6	0	0
	15	4.IV. „ 18.IV.	0	0	0	0
	36	30.IV. „ 13.VI.	[1][4]	2	0	0
Abtheilung D/I	29 } ÷2	16.VII. „ 28.XI.	2	17	1	0
	24 } +	12.II. „ 4.IV.	0	0	0	0
Summa			15	116	17	43

[1] 2 darunter am vorhergehenden Tage D.-B.
[2] + bezieht sich auf später dahin verlegte inficirte oder suspecte Fälle.
[3] Station für die mit Tussis convuls. complicirten Scharlachfälle.
[4] [ ] = dorthin verlegte Fälle mit D.-B.



2. Versuchsjahr.

	Zahl der Behandelten	Zeiträume	Neu aufgenommen mit D.-B.	Im Spitale entstandene D.-B.-Fälle	Diphtherieen	Coccusaffectionen
Abtheilung D/I	34 ÷ 2	7.IV. bis 25.VII. 96.	2	3	3	3
Baracke G/I.	64	15.VI. „ 26.IX.	0	5	0	0
	40	2.X. „ 6.I. 97.	0	1	0	5
	16	18.II. „ 14.IV.	0	1	1 + 1 Dienstmäd.	0
	30	17.IV. „ 18.VI.	0	0	0	4
Abtheilung G/I	85 ÷ 1	28.IV. „ 1.X.	1	1	0	0
	25	4.X. „ 12.XII.	0	1	0	0
	50	17.XII. „ 6.V.	3	2	0	0
„ G/II	97	8.VI. „ 10.III.[1]	[4]	7	1	1
	21	22.III. „ 2.VI.	1	0	0	6
Baracke G/II	59	16.VI. „ 23.I.[2]	[2]	3	0	2
„ A	14	13.VIII. „ 12.IX.	0	4	0	0
	42	22.IX. „ 23.XII.	0	1	0	3
	33	13.I. „ 21.IV.	[1]	7	1	1
Abtheilg. G/IV	125	17.III. „ 10.XI.	3	0	0	6
	30	13.XI. „ 10.II.	0	15	0	7
	32	26.II. „ 27.V.	0	8	8	0
Baracke C	41	22.VIII. „ 1.XII.	0	0	0	2
	45	31.XII. „ 28.IV.	[1]	2	0	1
Abtheilung C/II	16	11.IX. „ 25.XI.	0	1	0	2
	80	1.XII. „ 17.IV.	1	1	0	0
„ G/III	68	14.V. „ 18.XI.	0	11	1	2
	41	7.I. „ 28.IV.	[2]	1	0	0
Abtheilung B/II	33	18.IX. „ 22.I.	[1]	2	0	0
	14	23.I. „ 24.III.	0	0	0	1
„ A/I	16	17.X. „ 14.I.	1	6	0	1
„ A/II	61	8.X. „ 3.IV.	2	9[3]	0	2
„ C/I	86	3.IX. „ 19.V.	4	0	0	9
Summe			18	92	15	58

[1] Zahlreiche Morbillifälle.

[2] Station erst für Parotitis-, dann für Tussis-, zuletzt für Morbillifälle.

[3] 2 + Scharlachrecidive; das eine Mal Belege im Schlunde vorhanden.



In den beiden Versuchsjahren mit einem durchschnittlichen Bestand von 112 Scharlachkranken, oder unter ca. 1500 solchen, entstanden demnach im Spitale 32 Diphtherieen, 208 Bacillfälle und 101 Coccusaffectionen.

Diphtherie kam also nur selten vor, und da dieselbe durchgehend sehr leicht war — es starb nur ein kleines Kind —, muss der Gesundheitszustand diesbezüglich gut genannt werden.

Eine Ausnahme macht nur der früher erwähnte erste Theil der Versuchsperiode, wo zum Theil mit inficirten Abtheilungen gearbeitet wurde. Hier entstanden im Laufe einiger Monate 9 Diphtheriefälle, darunter der erwähnte letal geendete. Darnach blieb der Gesundheitszustand lange Zeit ausgezeichnet; im zweiten, grösseren Theile des ersten Versuchsjahres entstanden nur 8, und in 27 von den 28 Campagnen des zweiten Versuchsjahres nur 7 Diphtheriefälle. Dessen ungeachtet fällt das Resultat kaum besser aus in diesem als im ersten Jahre, indem an seinem Ende in einer Campagne eine kleine, 8 Fälle umfassende Endemie vorkommt.

Da im genannten Zeitraume 101 Coccusanginen aufgezeichnet sind, scheint diesbezüglich der Gesundheitszustand weniger gut. Dies ist aber nicht der Fall; die genannte hohe Zahl ist nur dadurch entstanden, dass auch die leichtesten Schlundaffectionen und kleinsten Auflagerungen mitgerechnet sind.

Ungünstig erscheinen aber die Verhältnisse, was Diphtheriebacillen betrifft. Unter ca. 1500 Kranken wurden nicht weniger als 208 Fälle mit solchen getroffen, und in den einzelnen Campagnen war das Fortbleiben der Bacillen eher eine Ausnahme. Selbst im zweiten, grösseren Theile der Versuchsperiode, wo reingemachte und aufgeputzte Locale allzeit zur Disposition waren, wurden häufig bei einzelnen, zuweilen bei vielen Kranken in den verschiedenen Pavillons Diphtheriebacillen constatirt, und im ersten Theile der Versuchsperiode, unter ungünstigen hygienischen Verhältnissen, galt der letztgenannte Befund als Regel.

Die praktische Bedeutung des genannten Verhältnisses wird aber in hohem Grade dadurch eingeengt, dass die genannten Bacillen als Regel keine krankhaften Störungen bei ihren Wirthen hervorriefen. Von allen 240 Kranken mit im Spitale erworbenen Bacillen zeigten nur 32 Diphtherie, und bei der überwiegenden Mehrzahl von diesen entstand die Krankheit, bevor die Bacillen erkannt waren. Unter 213 Bacillen beherbergenden Individuen zeigten nur 5 später Diphtherie, und dies immer in schnellem Anschlusse an das Erscheinen der Bacillen.



Aus dem gewonnenen Materiale suchten wir demnächst auszufinden, wie der Infectionsstoff den reinen Abtheilungen zugeführt wurde. Diesbetreffend war unsere Aufmerksamkeit theils auf die Krankenlocale, theils auf die aufgenommenen und verlegten Kranken gerichtet.

Hinsichtlich des ersten Infectionsmodus konnte der allgemein angenommenen, grossen Tenacität des Diphtherievirus zu Folge die Möglichkeit, dass die reingemachten Abtheilungen noch Infectionsstoff beherbergten, nicht a priori ausgeschlossen werden.

Gegen diesen Infectionsmodus sprechen aber die hier gewonnenen Erfahrungen.

Einige solche gehen schon aus den angeführten Beispielen (F/I, Campagne 29. I. bis 8. IV. 1896; G/I, Campagne 4. IX. bis 6. XI. 1895; Baracke F, Campagne 28. XII. 1895 bis 28. III. 1896; Campagne 4. IV. bis 18. IV. 1896) hervor, und lässt sich deren Anzahl leicht vermehren. Einen besseren Beweis liefern aber diejenigen Krankenlocale, welche früher Stationen für die mit Diphtherie oder Diphtheriebacillen complicirten Scharlachfälle gewesen waren (Baracke G/I bis zum 26. IX. 1895; D/II bis zum 13. I. 1896; D/I bis zum 28. XI. 1895). Nachdem dieselben gereinigt waren, wurden in der folgenden Campagne theils keine Fälle mit D.-B. (D/I), theils erst nach Monaten (Baracke G/I am 11. XII.; D/II am 7. V.) ein einzelner solcher Fall beobachtet.

Hieraus scheint hervorzugehen, dass die reingemachten bezw. aufgeputzten Krankenlocale keine Diphtheriebacillen — jedenfalls keine ansteckungsfähigen — beherbergten.

In dieselbe Richtung zeigen auch unsere klinischen Erfahrungen. Nicht nur der Diphtherie, sondern allen hier behandelten Krankheiten gegenüber haben wir immer gesehen, dass unsere gereinigten Krankenlocale ohne Gefahr für eine andere Krankheit gebraucht werden konnten. Die beste Illustration hierzu ist die folgende Erfahrung. Im Sommer 1896 belegten wir 5 bisher für Scharlach verwendete Abtheilungen mit Diphtheriekranken und gaben der Scharlachseite eine entsprechende Anzahl von früheren Diphtherielocalen, ohne dass weder in der einen noch in der anderen Reihe von Abtheilungen irgend ein Fall der früheren Krankheit entstand.

Der andere Infectionsmodus, welchen wir einer Prüfung unterwarfen, war die Einfuhr des Contagium durch die aufgenommenen und die verlegten Kranken.

Obgleich wir schon im Voraus wussten, dass neu aufgenommene, frische Scharlachfälle die Träger von Diphtheriebacillen sein konnten, staunten wir doch über die Häufigkeit, mit welcher dies hier vorkam.



Es wurden nämlich getroffen:

Im 2. Halbjahr	1895	unter	387	Aufgenommenen	16	Mal Diphtheriebacillen,
„ 1. „	1896	„	401	„	4	„ „
„ 2. „	1896	„	407	„	11	„ „
„ 1. „	1897	„	352	„	7	„ „
im Ganzen		unter	1547	Aufgenommenen	38	Mal Diphtheriebacillen,

oder Bacillen bei 2·5 Procent der Aufgenommenen.[1]

Da diese Fälle in den gemeinen Krankensälen verblieben, bis das Resultat der bakteriologischen Untersuchung vorlag — gewöhnlich demnach ca. 24 Stunden —, scheint damit die Erklärung des Auftretens der Diphtheriebacillen in den Abtheilungen gegeben.

In einigen Campagnen waren diese Fälle auch die wahrscheinliche Infectionsquelle, und in anderen darf dies als eine Möglichkeit hingestellt werden. Häufiger hatte aber, wie es schon die angeführten Beispiele zeigen, der genannte Import keine Folgen und öfters wurden die Bacillen in Abtheilungen getroffen, welchen in dieser Weise kein Ansteckungsstoff zugeführt war.

Wären die dem vorliegenden Materiale anhaftenden Versuchsfehler nicht grösser, als dass sie im Grossen und Ganzen vernachlässigt werden könnten, würde aus dieser Untersuchung somit hervorgehen, dass die Bacillen der aufgenommenen Kranken nicht die Hauptinfectionsquelle seien.

Eine Erklärung der geringen Bedeutung dieser Infectionsquelle wäre auch diesen Beobachtungen abzuleiten. Wie später gezeigt werden soll, fristen bei den frischen Scharlachfällen die Diphtheriebacillen nur ein kümmerliches Dasein. Bei der folgenden Untersuchung, oft schon am Tage nach der Aufnahme, waren sie häufig wieder verschwunden.

Von den hier zu berücksichtigenden Fehlerquellen spielt diejenige, dass Bacillen zuweilen im Schlunde nicht gefunden werden, obgleich sie an anderen Stellen, besonders in der Nase, vorhanden sind, die erste Rolle. Von diesem Vorkommen ist auch die zweite Fehlerquelle, dass die Bacillen mitunter vermisst werden, wo ihr Vorhandensein nach dem positiven Resultate der vorangehenden und der nachfolgenden Untersuchung wahrscheinlich ist, möglicher Weise abhängig. Weiter werden Irrthümer dadurch veranlasst, dass die Bacillen zuweilen nur kurze Zeit vorhanden sind, deshalb bei von Zeit zu Zeit folgenden Untersuchungen übersehen werden können, während das betreffende Individuum doch die Ansteckung fortgeschleppt hat.

[1] Praktische Bedeutung hat dieses Verhältniss. Selbst in einem Spitale für Scharlach allein sind D.-B. nicht ohne besondere Maassnahmen fernzuhalten.

Von den erwähnten Fehlerquellen scheint die erste die wichtigste Rolle zu spielen, und wollte man die Diphtheriebacillen um jeden Preis weghalten, wäre es jedenfalls nothwendig, auch die Nase der Aufgenommenen zu untersuchen.

Für die vorliegende Frage scheint die Bedeutung der genannten Fehlerquellen nicht hoch anzuschlagen zu sein. Selbst wenn dieselben mit in Rechnung gezogen werden, ist das Auftreten der Bacillen in den Abtheilungen nicht allein den Bacillen der aufgenommenen Kranken zuzuschreiben.

Von den verlegten Kranken als Infectionsträgern gilt hauptsächlich dasselbe, was von den Aufgenommenen gesagt ist, nur dass diejenigen Individuen, die früher Diphtheriebacillen gezeigt haben, als besonders verdächtig zu betrachten sind. Wie später gezeigt werden soll, sind Bacillen bei diesen auffallend häufig wieder gefunden worden.

Andere Individuen als die erwähnten können aber die Infectionsträger gewesen sein.

In erster Reihe ist hier an die Convalescenten anderer Abtheilungen — in casu anderer Scharlachabtheilungen, da Berührung mit Diphtheriekranken schwerlich stattgefunden haben kann — zu denken. Als Beispiel der folgende Fall:

In der Baracke G/I[1] wurden am 31. VIII. 1896 D.-B. bei 2 Kranken, später bei noch 2 gefunden, ohne dass eine Infectionsquelle zu entdecken war. Gleichfalls am 31. VIII. wurde in der Abtheilung G/I (Pavillon G, Parterrewohnung links) ein Fall mit D.-B. entdeckt, ohne dass in der Abtheilung selbst oder dem Nachbarlocale etwas Verdächtiges gefunden werden konnte. In der Abtheilung G/I hatten aber nicht nur die Convalescenten der Baracke G/I, sondern auch Patienten aus der Baracke A, bis daselbst am 25. VIII. D.-B. bei mehreren Kranken gefunden wurden, gebadet (in den Baracken findet sich kein Bad). Wahrscheinlich war also die Baracke A schon früher inficirt und ist dadurch das Entstehen der genannten Fälle zu erklären. Wie die Baracke A inficirt worden war, ist auch verständlich. Dieselbe lag in der Nähe der zur Internirung der mit Diphtherie oder Diphtheriebacillen complicirten Scharlachfälle gebrauchten Abtheilung B/I, und die angestellte Nachforschung ergab, dass Verkehr zwischen den Pfleglingen beider Abtheilungen stattgefunden hatte.

Zuweilen war das Pflegepersonal mit grösserer oder geringerer Wahrscheinlichkeit die Infectionsquelle. Für die oben genannten Fälle in der Baracke A liegt auch die Möglichkeit vor, dass sie durch irgend etwas,

[1] Ueber die Lage dieser und der folgenden Krankenabtheilungen siehe den Grundplan (Fig. 1).



welches die Wärterin mitgebracht hatte, inficirt waren. In den Abtheilungen, wo dieselbe früher angestellt war — z. B. in der Baracke F, siehe Beispiel V —, waren Diphtheriefälle mehrmals vorgekommen, zum letzten Male im Juli 1896 in der Abtheilung D/I, nach deren Schliessung sie die Baracke A übernommen hatte. Dass die genannte Wärterin Bacillen im Schlunde trug, war dagegen unwahrscheinlich, da die wiederholte Untersuchung keine solche entdeckte.

In einem anderen Falle war dies aber der Fall. In der Baracke G/I, wo in den seit ihrer Eröffnung verflossenen 7 Wochen nichts Verdächtiges vorgekommen war, erkrankte das Dienstmädchen in der Nacht zum 5. IV. 1896 an schwerer Diphtherie und wurde am folgenden Morgen evacuirt. Am 8. IV. zeigte ein Kranker leichte Diphtherie und die selben Tages vorgenommene Untersuchung aller 10 Kranken ergab D.-B. bei noch einem.

Weiter können Aerzte und Besucher zuweilen die Ansteckung gebracht haben, aber die Bedeutung dieser Infectionsquelle ist jedenfalls nur gering.

Die Frage, ob die genannten Infectionsquellen zusammen das Auftreten der Diphtheriebacillen in unseren Scharlachabtheilungen einigermaassen erklären, muss nach meinem Dafürhalten verneinend beantwortet werden. Am klügsten erscheint es deshalb, vorläufig auch mit anderen Infectionsquellen — leblosen Gegenständen, besonders Nahrungsmitteln und der Luft — zu rechnen, etwas Positives in dieser Beziehung giebt die vorliegende Untersuchung aber nicht.

Ueber das Leben der Diphtheriebacillen beim einzelnen Individuum und in den verschiedenen Campagnen haben unsere Beobachtungen Folgendes ergeben:

Bezüglich des Heranwachsens der Bacillen beim einzelnen Individuum wurde gewöhnlich gefunden, dass dieselben sofort in reichlicher Menge vorhanden waren. In einzelnen Fällen schien aber das Hervorsprossen nur schwierig zu geschehen; das erste Mal wurden die Bacillen in so geringer Menge gefunden, dass sie der Roux'schen Lehre zu Folge als Pseudodiphtheriebacillen zu betrachten waren, während die folgenden Abimpfungen Bacillen in gewöhnlicher Menge zeigten.

In der Abtheilung G/IV zeigte ein am 4. I. 1896 rein gefundener Kranker am 13. I. Kokkobacillen und einzelne Diphtheriebacillen ähnliche Stäbchen, am 28. I., 30. I., 6. II. D.-B. in gewöhnlicher Menge. In der Abtheilung F/I gab die Untersuchung von allen 18 Patienten am 12. III. 1896 spärliche und deshalb zweifelhafte Bacillen bei einem Kranken, wo die nächste Untersuchung nur Kokken, die dritte (am 30. III.) Diphtherie-



bacillen in gewöhnlicher Menge zeigte. In der letztgenannten Campagne kamen weder früher noch später D.-B. vor und lag deshalb hier keine Reinfection vor.

Was das spätere Schicksal der Bacillen anbelangt, lehren unsere Wahrnehmungen, dass dieselben zuweilen schnell wieder verschwanden, mitunter nur bei einer Untersuchung getroffen wurden.

Am häufigsten wurde dies bei den mit D.-B. in's Spital gekommenen frischen Scharlachfällen gesehen.

Z. B. unter 18 im Zeitraume vom 24. VIII. 1896 bis 1./IV. 1897 Aufgenommenen zeigten

10 nur 1 Mal D.-B.,
5 „ 2 „ „
2 „ 3 „ „
1 „ 4 „ „

und da die zweite Untersuchung als Regel eine halbe Woche nach der ersten, die folgenden einmal wöchentlich geschahen, waren die Bacillen gewöhnlich schnell wieder verschwunden.

Auch hier wurde aber eine Rückkehr der Bacillen nicht selten gesehen; unter den obengenannten 18 war dies 5 Mal der Fall. Von den Recidiven kamen 3 bei denjenigen vor, die 1 Mal, 2 bei Kranken, die 3 und 4 Mal Bacillen gezeigt hatten. Selbst bei den letztgenannten war demnach keine Immunität eingetreten; gerade bei den Recidiven persistirten die Bacillen mit ausserordentlicher Hartnäckigkeit. Bei den 3 Erstgenannten ergaben bezw. 3, 8 und 9 Abimpfungen Bacillen, bevor diese endlich 2 Mal nach einander vermisst wurden; die 2 Letztgenannten verliessen das Spital mit Bacillen, nachdem dieselben bei bezw. 4 und 13 Untersuchungen gefunden waren.

Das gute Gedeihen der Bacillen in den letztgenannten 2 Fällen wird am einfachsten auf eine individuelle Disposition zurückgeführt. Ihr schnelles Verschwinden in den frischen Scharlachfällen ist am natürlichsten aus ihrer Verdrängung durch die Bakterien der Scharlachangine abzuleiten. Hinsichtlich der Rückkehr der Bacillen liegen dagegen zwei Möglichkeiten vor, erstens, dass die zurückgedrängte Flora nach dem Aufhören der Scharlachangine wieder heranwächst, zweitens, dass eine Reinfection hier vorliege, welche im obengenannten Locale, wo alle mit Diphtherie und D.-B. complicirten Scharlachfälle behandelt wurden, leicht erklärlich ist. Durch beide genannte Möglichkeiten wäre aber die anscheinend grössere Lebenskraft der secundären Flora zu erklären.

Auch bei anderen, in den allgemeinen Abtheilungen oder in der Diphtheriebacillstation verpflegten Individuen war die Wiederkehr der Bacillen keine Seltenheit (siehe z. B. S. 267 unten), und in praktischer



Beziehung bleiben diejenigen Kranken, welche früher Bacillen gezeigt haben, deshalb immer verdächtig und dürfen dieselben nicht ohne zwingenden Grund auf reine Abtheilungen verlegt werden.[1]

Während die Diphtheriebacillen in einigen Fällen schnell verschwanden, persistirten sie in anderen lange Zeit, zuweilen so lange, dass es unpraktisch schien, die Kranken noch länger im Spitale zurückzuhalten. Die längste Zeit, welche ein Kind daselbst mit Bacillen verbrachte, war 5 Monate.[2]

Hinsichtlich des Verhaltens der Abtheilungen ist schon früher hervorgehoben, dass das Verbleiben der aufgenommenen bacillentragenden Individuen ca. 24 Stunden in derselben gewöhnlich keine üblen Folgen hatte, und dasselbe war oft der Fall, wenn ein Kranker mit Bacillen noch längere Zeit (wie lange war gewöhnlich nicht zu bestimmen, da die vorausgehende Untersuchung längere Zeit vorher stattgefunden hatte) dort zugebracht hatte. Zum grossen Theile ist dieses Resultat zwar darauf zurückzuführen, dass die betreffenden Kranken entfernt wurden, sobald die Diphtheriebacillen gefunden waren; Beispiele, dass ihr Verbleiben in den Abtheilungen nur spärliche secundäre Fälle zur Folge hatten, finden sich doch auch in diesem Materiale.

In der Abtheilung G/II wurden in der Campagne 30. XII. 1895 bis 9. V. 1896 61 Patienten behandelt. Am 18. I. zeigte ein gerade aufgenommener Kranker D.-B. und wurde evacuirt, am 4. III. ein Patient D.-B. (auch evacuirt), am 7. III. ergab die Abimpfung aller 17 Kranken D.-B. bei 2, die im Saale verblieben. Am 26. III. zeigte die Untersuchung aller 11 Kranken (8 rein entlassen, 2 zugekommen) Bacillen nur bei einem der früher inficirten. Am 30. III. wurden bei einem Kranken D.-B. — nur in der Nase — gefunden, am 15. IV. zeigte die Abimpfung aller 13 Kranken (5 rein entlassen, 7 zugekommen) Bacillen nur beim Obengenannten — diesmal nur im Schlunde —, am 4. V. wurden alle 6 zurückgebliebenen Patienten rein gefunden, am 9. V. zeigte 1 von diesen D.-B.

Eine Erklärung des genannten Verhaltens liegt auch nahe. Erstens besassen wahrscheinlich immer einige Individuen eine natürliche Immunität, zweitens war das Contagium anscheinend oft schwach.

[1] Ueberhaupt hat unsere, durch die Praxis gewonnene Ueberzeugung, dass die Kranken in so geringem Umfange als möglich von einer Abtheilung auf eine andere verlegt werden dürfen, durch diese Untersuchungen eine gute Stütze gefunden.

[2] Aufgenommen am 11. III. 1895, zeigte dasselbe am 1. V. Bacillen und weissliche Verfärbung der rechten Tonsille, später immer Bacillen, die am 6. IX. voll virulent gefunden wurden (400 ^{grm} schweres Meerschweinchen gestorben 60 Stunden nach Injection von 1 ^{ccm}, 48stündige Bouilloncultur), bis am 29. IX. und 1. X. endlich nur Kokken gefunden, und der Patient entlassen wurde.



Für die neu Aufgenommenen ist dies oben gezeigt, und im letzterwähnten Falle war dasselbe wahrscheinlich der Fall. Nur bei einem der am 7. III. Bacillen tragenden Individuum persistirten die Bacillen ca. 1 Monat, beim anderen wurden sie nur bei einer Untersuchung gefunden, und beim später inficirten Kranken waren sie nur zwei Mal — das eine Mal nur in der Nase, das andere Mal nur im Schlunde — anwesend.

Ganz anders ging es aber, wenn die inficirten Kranken nicht entfernt wurden, zuweilen auch, wo dies geschah.

In der früher erwähnten Baracke F entstand am 14. XI. 1895 ein Diphtheriefall, der gleich entfernt wurde. Die Abimpfung aller 11 Kranken gab aber am 17. XI. D.-B. bei 4 und später zeigten noch 2 Bacillen.

In der Abtheilung G/III zeigte am 15. IX. 1895 ein neu aufgenommener Kranker[1] D.-B. und wurde evacuirt, am 8. X. und 20. X. zeigten 2 Kranke Flecke ohne Bacillen, am letztgenannten Tage ein Kind einen kleinen Belag unter der Zunge mit D.-B. (evacuirt), am 29. X. ergab die Untersuchung aller 23 Patienten D.-B. bei 8.

Obgleich 3 Fälle mit D.-B. dort eingebracht waren, blieb, wie früher erwähnt, die Abtheilung G/IV in der Campagne vom 17. III. bis 10. XI. 1896, in welcher 125 Kranke behandelt wurden, immer rein. In der folgenden, 30 Kranke umfassenden Campagne (13. XI. 1896 bis 10. II. 1897) kamen Mitte December mehrere Coccusanginen, theils mit Belag, vor; am 17. XII. zeigte 1 Kranker Diphtheriebacillen und wurde evacuirt, am 19. XII. wurden Bacillen bei 2 Patienten gefunden, von welchen der eine bei der nächsten Untersuchung (am 5. I.) rein gefunden wurde, der andere nur einzelne Bacillen darbot; am 25. XII. zeigte 1 Kranker D.-B. und einige nicht charakteristische Flecke im Schlunde, am 7. I. und 14. I. noch 2 Kranke D.-B. (entlassen am folgenden Tage); am 21. I. gab die Abimpfung aller 16 Kranken D.-B. bei 8 und 1 früher (25. XII.) Inficirten.

Da einige der letzterwähnten Kranken mehrere Tage mit Bacillen in ihrer Abtheilung verblieben, bildet die genannte Campagne den Uebergang zu denjenigen, wo die inficirten Patienten nicht entfernt wurden.

---

[1] Bei der folgenden Untersuchung (am 22. IX.) zeigte dieser Kranke Coccobacillen und Kokken, am 26. IX. einzelne D.-B., am 3. X. Coccobacillen und D.-B., am 10. X. Kokken, am 17. X. wenige Colonieen mit D.-B., am 24. X. D.-B. und Coccobacillen, am 31. X., 7. XI. und 11. XI. D.-D., am 19. XI. Kokken u. Streptokokken, am 22. XI. Kokken. Mit der Cultur am 11. XI. wurde eine Virulenzbestimmung gemacht, die positives Resultat gab, indem ein 250^{grm} schweres Meerschweinchen 30 Stunden nach der Einspritzung von 1^{ccm} einer 24 stünd. Bouilloncultur starb.



In der Abtheilung G/III wurden in der Campagne vom 14. V. bis 18. XI. 1896 68 Patienten behandelt, und waren am 25. VI., 17. VIII. und 1. IX. alle vorhandenen Kranken frei von Bacillen. Am 1. X. zeigte aber 1 Kranker solche und wurde evacuirt; am 19. X. zeigten 3 Kranke Bacillen und am 21. X. gab die Abimpfung aller 15 Kranken (die 3 letztgenannten inbegriffen) D.-B. bei 9. Am 27. X. zeigte ein früher bacillfreier Knabe eine folliculäre Angina und D.-B.; am 1. XI. wurden alle 15 Kranken wieder rein gefunden; am 6. XI. zeigte der früher bacillenfreie Bruder des erwähnten Knaben eine leichte diphtheritische Angina, und selben Tages gab die Abimpfung D.-B. bei beiden Brüdern.

In der Abtheilung D/I, wo D.-B. früher vorgekommen, alle 11 Kranken am 25. VIII. 1895 aber rein gefunden waren, zeigte am 31. VIII. 1 Aufgenommener, am 4. IX. und 7. IX. 2 Kranke D.-B., und wurden entfernt. Am 7. X. zeigte ein Kind Diphtherie und wurde auch evacuirt; am selben Tage gab die Abimpfung aller 15 Patienten D.-B. bei 3, welche auf dem Saale verblieben. Am 16. X. zeigten 1, am 19. X. noch 1, am 24. X. noch 2 Kranke D.-B.; am 28. X. gab die Untersuchung aller 13 Kranken (darunter die obengenannten 7) D.-B. bei 11, und von den 2, die damals keine Bacillen darboten, zeigte der Eine bei der folgenden Abimpfung (am 4. XI.) auch Bacillen. Unter 13 Kranken blieb demnach nur einer frei von solchen.[1]

Beim Verbleiben der inficirten Fälle in den Abtheilungen wurden Bacillen mitunter bei vielen, einmal bei fast allen Kranken des betreffenden Saales gefunden. Die Verhältnisse blieben dann denjenigen ähnlich, welche am Anfange dieser Untersuchungen in den schmutzigen, z. Th. mit Diphtherie inficirten Abtheilungen vorhanden waren.

Die erwähnten Campagnen zeigen aber nicht nur die Verbreitung der schmarotzenden Flora, sondern auch ihr folgendes Zurückgehen.

In der Abtheilung G/III gab die Untersuchung am 29. X. D.-B. bei 8 unter 23 Kranken. Am 15. XI. wurden aber alle diese rein gefunden und die übrigen Kranken blieben frei von Bacillen.

In der Abtheilung G/IV wurden am 21. I. Bacillen bei 9 von 16 Kranken gefunden. Am 10. II., als die Abtheilung geschlossen wurde,

[1] In einem Falle wurde hier eine Virulenzbestimmung, die vollvirulente Bacillen zeigte, gemacht. Der frei von D.-B. am 2. IX. aufgenommene Kranke zeigte solche am 28. X., 4. XI. und 11. XI., darnach Kokken am 19. XI. und 21. XI. Nach Injection von 1 ccm 24 stünd. Bouilloncultur vom 11. XI. starb ein 350 grm schweres Meerschweinchen nach 21 Stunden.

waren von den 16 Kranken 10 rein, 3 mit D.-B. entlassen, und die 3 zurückbleibenden rein.

In G/III waren unter 15 am 21. X. untersuchten Kranken 9 inficirt, und am 27. X. zeigte noch einer D.-B. Am 1. XI. wurden aber alle 15 rein gefunden.

In D/I zeigten am 28. X. unter 13 Kranken 11, bei der folgenden Untersuchung (am 4. XI) noch einer D.-B. Bei dieser Abimpfung zeigten aber von den früher inficirten nur 4, im Ganzen demnach nur 5 Kranke D.-B. Am 11. XI. wurden solche nur bei 3 Kindern gefunden, und am 23. XI. waren auch diese rein.

Von den Bedingungen, welche dem Gedeihen der Diphtheriebacillen günstig oder ungünstig sind, lehren diese Untersuchungen fast nichts. Eigentlich wurde nur beobachtet, dass, je günstiger die hygienischen Verhältnisse und je besser die Constitution der Pfleglinge war, je weniger gelang das Haften der Schmarotzer.

Deshalb war im zweiten Theile der Versuchsperiode der Gesundheitszustand am besten, und schienen die Bacillen dort am wenigsten zu gedeihen, wo die beste Ordnung und Reinlichkeit stattfand.

Andererseits schienen die Bacillen einen günstigen Boden bei scrophulösen, mit Schlund- und Nasenkatarrh behafteten Kindern zu finden, und mehrmals wurde die bei solchen gestellte Wahrscheinlichkeitsdiagnose: „Diphtheriebacillen in der Nase“ durch die folgende bakteriologische Prüfung bestätigt.

Da frühere Untersuchungen von Roerdam und Verfasser[1] zu zeigen schienen, dass einige derjenigen Factoren, welche beim Hervorrufen der Katarrhe thätig sind, auch das Entstehen der Diphtherie begünstigen, zogen wir auch die Möglichkeit in Erwägung, dass dieselben Factoren der Verbreitung der Diphtheriebacillen Vorschub leisten könnten, dass also viele Fälle mit solchen dort zu finden wären, wo andere Anginaformen häufig seien.

Eine Stütze für diese Annahme enthalten die hier gewonnenen Resultate aber nicht.

Aus der Zusammenstellung[2] aller. 28 Campagnen des zweiten Versuchsjahres, wo die Registrirung der Coccusanginen am sorgfältigsten durchgeführt ist, geht hervor, dass zwar die D.-B. dort in grösster Menge (50 Fälle mit D.-B und 6 Diphtherieen in 12 Campagnen) getroffen wurden, wo Coccusanginen mässig (1 bis 3 Fälle in jeder Campagne) re-

[1] Bericht des dänischen Diphtheriecomités. *Verhandlungen des internationalen Congresses für Hygiene und Demographie.* Budapest 1895.

[2] Unter 28 Campagnen in 14 Krankenlocalen kamen vor:



präsentirt waren, dass darnach aber die Gruppe von Campagnen, wo keine Coccusanginen aufgezeichnet sind, folgt (26 D.-B. und 9 Diphtherieen in 10 Campagnen), und dass die Bacillen dort am seltensten (16 D.-B., 0 Diphtherieen in 6 Campagnen, darunter 15 D.-B. in einer) getroffen wurden, wo Coccusanginen am reichlichsten (4 bis 9 Fälle in einer Campagne) vorhanden waren.

---

1. In den 6 Campagnen, wo die Coccusaffectionen am häufigsten (4—9 Fälle in jeder Campagne) vertreten waren:

Coccus-affectionen	Diphtherie-bacillfälle	Diphtherieen
4	0	0
5	1	0
6	0	0
6	0	0
7	15	0
9	0	0
Sa. 37	16	0

2. In den 12 Campagnen, wo Coccusaffectionen mässig (1—3 Fälle in jeder Campagne) vertreten waren:

Coccus-affectionen	Diphtherie-bacillfälle	Diphtherieen
1	7	1
3	3	3
1	7	1
2	3	0
3	1	0
2	0	0
1	2	0
2	1	0
2	11	1
1	0	0
1	6	0
2	9	0
Sa. 21	50	6

3. In den 10 Campagnen, wo keine Coccusaffectionen vorkamen:

Coccus-affectionen	Diphtherie-bacillfälle	Diphtherieen
0	1	0
0	5	0
0	1	1
0	1	0
0	2	0
0	4	0
0	8	8
0	1	0
0	1	0
0	2	0
Sa. 0	26	9

Auch gleichzeitig vorhandene Masern zeigten keinen Einfluss auf das Gedeihen der Bacillen. Im Zeitraume vom 11. X. bis 3. XII. 1896 wurden in der Baracke G/II 20 mit Masern complicirte Scharlachfälle behandelt, und trotzdem die Diphtheriebacillen gleich eingeschleppt wurden, kamen solche später nur bei 2 Kranken, bei einem in so spärlicher Menge, dass die Diagnose unsicher war, vor.

Wenn man aus zwei hier beobachteten Fällen Schlüsse ziehen dürfte, schien frischer Scharlach das Haften der Bacillen zu fördern. In den genannten Fällen[1] traten bei Individuen, die früher keine Bacillen gezeigt hatten, solche gleichzeitig mit Scharlachrecidiven auf. Dass diese günstigen Bedingungen jedenfalls nur vorübergehend sind, erhellt aus dem früher Dargestellten.

Der dritte Punkt, welchen wir einer genaueren Untersuchung unterwarfen, war die Beziehung der Bacillenfälle zu den klinischen Diphtherieen.

Hierbei stellte sich gleich heraus, dass keine scharfe Grenze zwischen den nur Bacillen zeigenden Fällen und den als Diphtherie bezeichneten Affectionen vorhanden war. Wo D.-B. mit acuten Auflagerungen oder Entzündungen zusammen vorkamen, wurde es Diphtherie genannt; ob die erstgenannten wirklich acut, die Schlundabnormitäten unzweifelhaft als Entzündungen zu bezeichnen seien, war oft schwierig zu entscheiden.

Sondern wir die Fälle so gut als möglich, stellt sich das folgende Verhältniss heraus:

Im 1. Versuchsjahre 116 Fälle mit D.-B. (ohne Diphth.) 17 Diphtherieen,
„ 2. „ 92 „ „ „ 15 „

im Ganzen 208 Fälle mit D.-B. (ohne Diphtherie) und 32 Diphtherieen.

Die überwiegende Anzahl der Diphtheriebacillfälle zeigte also keine krankhaften Erscheinungen, und entweder besass demnach der grösste

[1] In der Campagne vom 8.X. 1896 bis 3.IV. 1897 in der Abtheilung A/II wurde die Kranke A. B. am 20.XI. aufgenommen und zeigte damals nur Kokken. Am 3.XII. trat ein Recidiv mit diphtherieähnlichem Belage im Schlunde ein, und wurden dann D.-B. und Coccobacillen gefunden. Am 6., 10., 17., 24. XII. und 7. I. wurden jedes Mal Diphtheriebacillen und Streptokokken gefunden, am 7., 16., 29. I. und 5., 11., 16. II, waren theils nur Kokken, theils Coccobacillen vorhanden. Mit der Cultur vom 6. XII. wurde eine Virulenzprobe gemacht, die positiv ausfiel; das 633^{grm} schwere Meerschweinchen starb 28 Stunden nach Injection von 1^{ccm} 24 stünd. Bouilloncultur.

In derselben Campagne zeigte die am 24.XI. mit zweifelhaftem Scharlach aufgenommene A. O. am 24.XI., 4. u. 13.XII. nur Kokken. Am 28. XII. traten ausgesprochene Scharlachsymptome auf, und die Abimpfung gab dann D.-B., während am 1.I., 6.I. und 22.II. nur Kokken gefunden wurden.

Theil unserer Scharlachconvalescenten eine gewisse Immunität gegen Diphtherie, oder die hier als Diphtheriebacillen bezeichneten Mikroorganismen waren keine echten.

Da Virulenzbestimmungen durchgehend fehlen, ist die letztgenannte Möglichkeit für einen Theil der hier behandelten Fälle nicht zurückzuweisen. Dass sie nicht alle dieser Kategorie angehörten, geht bakteriologisch aus den spärlichen Virulenzbestimmungen,[1] klinisch aus der oft intimen Verbindung zwischen den Fällen mit Diphtheriebacillen und den Diphtherieen hervor. In mehreren Campagnen kamen zwar Bacillfälle ohne Diphtherieen vor; wo Diphtherie entstand, wurden jedoch fast immer Bacillen auch bei anderen Kranken gefunden.

Für einen Theil unserer Diphtheriebacillen zeigenden Scharlachkranken bleibt es deshalb wahrscheinlich, dass dieselben eine gewisse Immunität gegen Diphtherie besassen. Diese Annahme ist auch mit den von Müller[2] in der Kinderabtheilung der Charité gefundenen Verhältnissen, die Müller freilich geneigt ist auf die Immunisirung[3] der Kinder zurückzuführen, und mit der im Ganzen nicht grossen Ansteckungsfähigkeit der Diphtherie in Uebereinstimmung.

Der Ausdruck „eine gewisse Immunität“ ist deshalb gebraucht, weil wir im gegebenen Zeitraume augenscheinlich mit einem schwachen Contagium zu thun hatten. In der Stadt war die Diphtherie, sowohl was die Zahl als die Schwere der Fälle betrifft, in steter Abnahme begriffen, und die in den Scharlachabtheilungen vorgekommenen Fälle waren durchgehend sehr gutartige.

Unter den 32 Fällen, die hier als Diphtherie bezeichnet sind, waren die Belege:

unbedeutend	bei	20	(+ 1 Dienstmädchen),
mittlere	„	10	
verbreitete	„	2	(+ 1 Dienstmädchen),

[1] 4 solche — bei demjenigen Kranken, der die längste Zeit Bacillen zeigte, bei einem Kinde aus der Campagne, wo fast alle Kranken in der Abtheilung (D/I, siehe früher) Bacillen zeigten, in einem Falle wo D.-B. (und Belege) gleichzeitig mit einem Scharlachrecidive zukamen und in einem anderen, wo die Bacillen kamen und schwanden —, welche alle volle virulente Bacillen zeigten, sind schon angeführt, und in einem später zu referirendem Falle — wo am folgenden Tage Belege zukamen — war das Resultat dasselbe. Ein sechster auf Virulenz erprobter Fall stammt aus der Campagne v. 17.X. 1896 bis 14.I. 1897 in der Abtheilung A/I, wo 6 (nicht evacuirte) Fälle mit Bacillen, aber keine Diphtherieen auftraten. Nach Injection von 1 ^{ccm} 24stündiger Bouilloncultur blieb das 450 ^{grm} schwere Meerschweinchen zwar am Leben, zeigte aber ausgesprochene Infiltration an der Impfstelle.

[2] O. Heubner, *Arbeiten aus der Klinik für Kinderkrankheiten an der Universität Berlin.*

[3] Unter allen hier erwähnten Kranken wurde Serum nur zwei Mal angewandt.

und den localen Veränderungen entsprach das klinische Bild. Nur eine Kranke starb, und diese war ein kleines (2 jähriges), schlecht genährtes Mädchen, welches verbreitete Belege und Pneumonie darbot.

Die einzelnen schwereren Fälle sind deshalb am einfachsten auf eine günstige — locale oder allgemeine, temporäre oder permanente — Disposition der Ergriffenen zurückzuführen. In der kleinen Endemie, welche am Ende dieser Untersuchung in der Abtheilung G/IV (Campagne vom 26. II. bis 27. V. 1897) auftrat, waren unter 8 Diphtheriefällen 6 leicht, 1 mittelschwer und 1 schwer, und der letztgenannte Fall kam bei einem schwächlichen, durch eine schwere Scarlatina noch mehr heruntergekommenen Kinde vor, während die mittelschwere Diphtherie ein Kind mit mehreren tuberculösen Affectionen betraf.

Möglich wäre auch das oben hinzugefügte Pronomen „gewisse" wegzulassen. Jedenfalls sahen wir in der Station für die mit D.-B. und Diphtherie complicirten Scharlachfälle — wo alle die letztgenannten und ein grosser Theil der ersten verpflegt wurden, und wo die Diphtheriebacillfälle demnach einem intensiven Virus ausgesetzt wurden — keinen Fall von Diphtherie entstehen.

Obgleich wir im Ganzen mit einem schwachen Contagium zu thun hatten, schien dies doch eine wechselnde Penetrationsfähigkeit zu besitzen. Schon früher sind Campagnen (z. B. D/I, Campagne vom 16. VII. bis 27. XI. 1895) erwähnt, wo gleichzeitig mit einer grossen Menge von Diphtheriebacillfällen nur ein einzelner Diphtheriefall auftrat, während in der oben genannten Campagne in G/IV unter 30 Kranken 8 Fälle von Diphtherie (und 8 Fälle mit D.-B.) vorkamen. Eine Zusammenstellung aller 32 Diphtherieen zeigt auch, dass dieselben sich zwar auf 13 Abtheilungen vertheilen, dass aber

in einer Campagne in der Abtheilung	G/IV	8	Fälle entstanden
„ „ „ „ „ Baracke	G/VIII	4	„ „
„ „ „ „ „ Abtheilung	D/I	3	„ „
„ „ „ „ „ Baracke	G/III	3	„ „

und fast die Hälfte der Fälle kamen demnach in zwei Campagnen vor.

Das grössere Penetrationsvermögen des Infectionsstoffes kann hier nicht ohne Zwang einer besonderen Beschaffenheit des Bodens abgeleitet werden. Weit näher liegt die Erklärung, dass entweder das Contagium intensiver wäre oder sein Eindringen durch irgend einen Hülfsfactor erleichtert wurde.

Zur Klärung des ersten Punktes sind Virulenzbestimmungen, welche in diesem Materiale nicht vorhanden sind, jedenfalls nothwendig. Was die andere Möglichkeit anbelangt, haben wir gedacht, dass einige der-



jenigen Bakterienformen, welche pseudomembranöse Entzündungen hervorrufen, auch das Eindringen der Diphtheriebacillen erleichtern könnten, und deshalb das Verhalten der Coccusanginen näher untersucht.

Die schon früher angegebenen Zahlen widerlegen aber diese Annahme. In den Campagnen mit einer mittleren Menge (1 bis 3) Coccusanginen kamen zwar unter 6 Diphtheriefällen 3 in einer Campagne mit 3, die 3 anderen in 3 Campagnen mit 1, bezw. 1 und 2 Coccusanginen vor; in den Campagnen, wo die Coccusanginen am stärksten repräsentirt waren (4 bis 9 Fälle in jeder Campagne), kam aber — trotzdem, dass einmal 15 Fälle mit D.-B. entstanden — keine Diphtherie vor, während in den Campagnen, wo keine Coccusanginen aufgezeichnet sind, 9 Diphtheriefälle (8 freilich in einer Campagne) entstanden.

Wo klinische Diphtherie auftrat, geschah dies immer bald nach der Infection mit Bacillen.

Einige Patienten, welche Diphtherie bekamen, waren kurze Zeit vorher frei von Bacillen gefunden. Ein solcher Fall, wo ein am 1. XI. rein gefundener Knabe am 6. XI. an Diphtherie erkrankte, ist schon früher mitgetheilt. Beim einzigen hier gestorbenen Kranken wurden am 10. VII. und 18. VII. nur Kokken gefunden; am 26. VII. bekam das Kind Fieber und am folgenden Tage waren Belege vorhanden. In der Abtheilung F/I zeigte 1 Kranker am 23. XII. Kokken, am 27. XII. Diphtherie. In der Abtheilung G/IV zeigten 2 Kranke, die am 27. IV. rein gefunden waren, am 5. V. bezw. am 9. V. Diphtherie.

In den wenigen Fällen, wo Bacillen gefunden waren, bevor die Diphtherie zum Vorschein kam, schloss sich die letztgenannte schnell an. Am Anfange dieser Untersuchungen zeigten in der Baracke G/VIII unter 9 untersuchten Kranken 5 D.-B. An demselben Abend, als dies Resultat vorlag, waren 2 von den 5 febril und wurden bei dem Einen weissliche Punkte im Schlunde gefunden, während der Andere am nächsten Morgen einen Fleck im Schlunde darbot. Am 26. IV. gab in der Abtheilung G/IV die Abimpfung von 3 Patienten D.-B. bei Einem; am 28. IV. war hier ein kleiner Beleg vorhanden. Am 27. IV. wurden alle Kranken in der genannten Abtheilung untersucht und Bacillen bei 2 gefunden, am selben Tage zeigte Einer der letztgenannten Belege im Schlunde. Am 10. V. wurden wieder alle Kranken in der Abtheilung untersucht und 4 zeigten dann sichere, 1 zweifelhafte Bacillen. Am 11. V. gab die Cultur aus dem letzten Falle Bacillen in gewöhnlicher Menge und am selben Abend war ein Fleck im Schlunde vorhanden.

Weil in den genannten Fällen die Diphtherie schnell dazukam, nachdem Bacillen gefunden waren, ist deshalb freilich nicht ausgeschlossen,



dass die Bacillen schon früher vorhanden waren. Nur im letzten der oben genannten Beispiele war der Kranke kurze Zeit vorher frei von Bacillen gefunden, und ein ähnlicher Fall kam nach dem Schlusse dieser Untersuchungsreihe wieder vor. Hier zeigte in der Abtheilung C/I ein Kranker am 2. VI., 27. VI. und 4. VII. Kokken, am 12. VII. vollvirulente[1] Diphtheriebacillen, am 13. VII. Belege im Schlunde.

Wenn aber unter 213 im Spital entstandenen Fällen mit Diphtheriebacillen nur 5 Mal Diphtherie entstand, und dies immer in schnellem Anschlusse an das Erscheinen der Bacillen geschah, scheint doch daraus hervorzugehen, dass die Diphtherie als Regel bald nach der Infection mit Bacillen entstehe.

Wenn diese Annahme weitere Bestätigung finden sollte, würde dies praktische Bedeutung haben. Die Bacillen beherbergenden Kranken brauchten dann nicht mehr zu fürchten, an Diphtherie zu erkranken, weil sie vorläufig gegen diese Krankheit immunisirt sind.

[1] Ein 500 ^{grm} schweres Meerschweinchen starb 48 Stunden nach der Einspritzung von 1 ^{ccm} 30stündiger Bouilloncultur.



Die Wohnungsdesinfection durch Formaldehyd.

Von

C. Flügge
in Breslau.

Unsere Wohnungsdesinfection bedarf entschieden der Reform; sie wird von Jahr zu Jahr unpopulärer bei den Aerzten und beim Publikum. Die Folge ist die Verheimlichung vieler Fälle von ansteckenden Krankheiten nur aus Furcht vor der Desinfection und in den Fällen, wo die Krankheit zur Anzeige gebracht und die Wohnungsdesinfection angeordnet ist, das Beiseiteschaffen aller nur irgend werthvollen Gebrauchsgegenstände, mögen sie noch so infectionsverdächtig sein. Nicht selten wird den Desinfecteuren ein fast völlig leerer Raum als das zu desinficirende Krankenzimmer überwiesen.

Die Gründe für diese Aversion des Publikums liegen hauptsächlich in dem Eingriff der Desinfecteure in das Eigenthum, in dem Fortschaffen vieler Gegenstände, an denen die Besitzer hängen, aus dem Hause in die Desinfectionsanstalt, und in der oft vorkommenden Beschädigung dieser Objecte und der Wohnung durch die Desinfection.

Solche Beschädigungen kommen vor einmal durch Ungeschicklichkeit und unrichtige Handhabung der Desinfectionsapparate. Tropfwasser kann die Betten und Kleider durchnässen und die Farben auswaschen. In grob schmutziger Wäsche, die eigentlich nicht in den Desinfectionsofen gehört, entstehen schwer vertilgbare Flecke. In den Taschen der Kleider bleiben Ledersachen, wie Handschuhe, Cigarrenetuis stecken und werden durch die Erhitzung total unbrauchbar.

Aber selbst beim Fehlen aller Unachtsamkeiten Seitens des Personals giebt es Beschädigungen der Gegenstände. Feinere Frauenkleider werden ganz verdorben oder bedürfen doch gründlichster Reparaturen, sollen sie wieder getragen werden. Plisséfalten gehen aus, Sammetstreifen bekommen



Druckstellen, der Gummi der Einlage in den Stehkragen schwitzt in den Stoff durch. Feinere Herrenkleider verlieren die „Façon“.

Betten und Kleider kommen ferner häufig mit einem unangenehmen Geruch zurück, der ihre Benutzung für Wochen unmöglich machen kann. Meist sind ja stark verschmutzte Betten aus den ärmsten Kreisen der Bevölkerung zu desinficiren; auch Betten von unsauberen Hospitalkranken werden oft in denselben Apparaten desinficirt; kommen daneben oder gleich darnach die Betten reinlicher Leute in den Apparat, so nehmen sie dabei Gerüche auf.

Auch im Wohnraum geht es nicht ohne Schaden ab. Besonders lässt das Abreiben der Wände mit Brot oder das Abwaschen der mit Oelfarbe gestrichenen Wände mit desinficirender Lösung dieselben nicht gerade verschönt zurück. Denn um Zeit und Arbeitskraft zu sparen, wird meist nur die untere Hälfte der Wände so behandelt, und diese bietet dann gegen die obere einen grellen Contrast.

Das Alles wird natürlich im Publikum mit starken Uebertreibungen weiter erzählt und so darf es nicht Wunder nehmen, wenn die Leute sagen, „zwei Mal desinficirt werden ist so gut wie einmal abbrennen“; oder wenn — wie es neulich in Breslau passirte — ein Arbeiter, bei dem trotz seines Widerstandes die Desinfection ausgeführt werden sollte, die Axt nimmt und sein ganzes Mobiliar in Trümmer schlägt, um dann höhnend auszurufen: „So, nun desinficirt!“

Noch etwas anderes macht die bisherige Wohnungsdesinfection unpopulär. Sie besteht in Abwaschen mittels Schrubbers und Bürsten, Abreiben mit Tüchern und Brot u. dergl. Das ist in den Augen der Leute nicht viel mehr als Reinmachen und Scheuerfrauenarbeit. Das imponirt ihnen nicht; würde irgend etwas Mystisches, Geheimnissvolles dabei sein, so würden die Leute eher an eine Wirksamkeit glauben.

Man darf nicht erwarten, dass sich die Unzufriedenheit des Publikums in officiellen Beschwerden kundgiebt. Die armen Leute, welche das grösste Contingent für Infectionskrankheiten und für Desinfection stellen, scheuen sich viel zu sehr vor dem Verkehr mit Behörden. Will man wissen, wie das Publikum über die Desinfection urtheilt, so erkundigt man sich besser nicht im Bureau der Desinfectionsanstalt, sondern fragt die Desinfectoren und die Leute, bei denen desinficirt ist, selbst aus.

Mag nun aber die bisherige Wohnungsdesinfection populär sein oder nicht, hat sie denn wenigstens genützt? Hat sie ihren Zweck erfüllt und den grössten Theil der im Raume vorhandenen Krankheitserreger vernichtet? — Leider kann das nur theilweise bejaht werden. Die Desinfection im Dampfofen kann, wenigstens in den städtischen Anstalten,



als sicher gelten; für das Land lässt sich, wie Schmidtmann[1] hervorgehoben hat, auch das nicht einmal behaupten. Die Proceduren im Wohnungsraume sind dagegen zweifellos unvollkommen wirksam. Beim Abwaschen des Fussbodens, der Wände, Tische u. s. w. mit Sublimat- oder Carbollösung fehlt es vor Allem an der nöthigen Zeitdauer der Einwirkung. Wo Löcher, Ritzen, Vertiefungen im Fussboden sind, stagnirt das Desinficiens längere Zeit und tödtet Alles ab; Erhebungen auf horizontalen Flächen, verticale Flächen werden dagegen zu rasch wieder vom Desinficiens frei, weil die dünne Lage Flüssigkeit abfliesst oder verdunstet und das Desinficiens im trockenen Zustande nicht mehr wirkt. Man hat bisher die Wichtigkeit der Einwirkungsdauer immer noch unterschätzt. Neuere Versuche haben zweifellos festgestellt, dass z. B. Sublimatlösung 1 : 1000 mindestens 30 Minuten einwirken muss, um Staphylokokken sicher abzutödten.

Ganz besonders ist auch das Abreiben der Wände mit Brot unzulänglich. Dasselbe wirkt nur einigermassen sicher, wenn kleinere Flächen in Betracht kommen, die kräftig und exact bearbeitet werden können; für die ganzen Wände eines Zimmers wird die Wirkung unsicher, weil die Ausdauer und Sorgfalt des Desinfectors nicht so lange vorhält.

Vor etwa Jahresfrist habe ich in meinem Institute einen praktischen Versuch gemacht, um die Wirksamkeit der bisherigen Wohnungsdesinfection zu prüfen. In einem Zimmer wurden Eiterkokken und andere Krankheitserreger auf bestimmte, unauffällig markirte Stellen der Wände, der Möbel, des Fussbodens gebracht. Dann wurde die gut geschulte städtische Desinfectionscolonne aufgefordert, dieses Zimmer in üblicher Weise zu desinficiren. Die Colonne hat, da sie sich controlirt fühlte und da ausserdem das Zimmer klein war und wenig Gebrauchsgegenstände enthielt, ihre Aufgabe jedenfalls aussergewöhnlich gut erfüllt. Der Versuch wurde in dieser Weise zweimal angestellt; jedes Mal aber wurde nach beendeter Desinfection ein erheblicher Theil der ausgesetzten Proben von Krankheitserregern lebend vorgefunden. — Ueber ähnliche Resultate berichtet neuerdings Silberschmidt.[2] Derselbe exponirte in zwei Räumen, welche von der städtischen Desinfectorin in Zürich desinficirt werden sollten, Culturen bestimmter Bakterien. Beim zweiten Versuche wurde die Desinfectorin absichtlich darauf aufmerksam gemacht, dass ihre Arbeit controlirt werde. Trotzdem fanden sich z. B. in einem Spalte des Fussbodens, in der Ecke des Fensterrahmens, auf einem Schuh, an der Innenseite eines Fusses vom Sopha u. s. w. die Testbakterien im lebenden Zustande.

[1] *Vierteljahrsschrift für öffentl. Gesundheitspflege.* Bd. XXVII.

[2] *Correspondenzblatt für Schweizer Aerzte.* 1898. Nr. 7.



Bedenken wir ferner, dass in der Praxis der Desinfector tagaus tagein 3 bis 4 solche Zimmerdesinfectionen durchmacht, so wird es unausbleiblich sein, dass er die ihm so wie so unsympathische Arbeit für gewöhnlich bei Weitem nicht so sorgfältig durchführt, wie in den citirten Controlversuchen, und dass daher meistens ein noch grösserer Bruchtheil der im Zimmer verstreuten Krankheitserreger am Leben bleibt. Begünstigend dafür wirkt, dass die bisherige Desinfection kaum controlirt werden konnte, es sei denn durch fortgesetzte Anwesenheit des Controleurs während der ganzen Manipulationen; nach beendeter Desinfection lässt sich nicht feststellen, ob Alles mit der nöthigen Sorgfalt behandelt ist.

Es ist immer fatal, die Unzulänglichkeit eines praktisch geübten Verfahrens in dieser Weise eingestehen zu müssen. Aber wir haben mit der bisherigen Desinfection geleistet, was wir mit den vorhandenen Mitteln leisten konnten. Wir dürfen überhaupt nie hoffen, durch unsere praktische Desinfection eine Vernichtung aller ausgestreuten Krankheitserreger zu erzielen; stets entgehen uns Mengen von Erregern, die während der Krankheit verschleppt sind oder die nach Ablauf der Krankheit vom Reconvalescenten, vom Pfleger des Kranken u. s. w. am und im Körper beherbergt werden. Wir können nur erwarten und verlangen, dass diejenigen Erreger, welche in einfacher und schonender Weise durch ein Desinfectionsverfahren abgetödtet werden können, auch wirklich abgetödtet werden; und wir müssen bestrebt sein, durch Auffindung immer wirksamerer Mittel und Verfahren den Procentsatz der abgetödteten Erreger mehr und mehr zu steigern. Sind wir in der Lage, in einem inficirten Raume über 90 bis nahezu 100 Procent der vorhandenen Keime sicher zu vernichten, so muss das die Infectionsgefahr, die sonst von dem Raume ausgeht, fast auf Null herabsetzen und wir dürfen mit einer Desinfection, die das leistet, zufrieden sein.

Dass unsere bisherige Desinfection nicht so viel leistet, dessen sind wir uns wohl bewusst gewesen, und die Unvollkommenheiten sind auch wiederholt hervorgehoben worden. Daraufhin aber etwa das ganze Verfahren zu discreditiren und als unbrauchbar zu verwerfen, dazu lag kein Anlass vor, so lange wir nichts Besseres kannten und mit dem alten Verfahren das Menschenmögliche leisteten. Nur die Folge hatten jene Unvollkommenheiten selbstverständlich, dass wir fortgesetzt auf der Suche nach einem geeigneteren Desinficiens und dass wir bereit waren, das alte Verfahren aufzugeben, sobald etwas zweifellos Besseres an seine Stelle gesetzt werden konnte.

In dieser Beziehung wurden nun in den letzten Jahren die weitgehendsten Hoffnungen auf das Formaldehyd gesetzt. Nachdem Aron-



son[1] und Trillat[2] im Jahre 1892, und Hauser[3] im folgenden Jahre auf die energisch desinficirende Eigenschaft des Formaldehyds hingewiesen hatten, publicirten zahlreiche Autoren[4] Versuche über die Verwendung des Formaldehyds zur Desinfection von Wohnräumen, und die Mehrzahl verkündeten mit grosser Emphase, dass im Formaldehyd das Desinficiens der Zukunft gefunden sei.

Ich habe damals zunächst einen ablehnenden Standpunkt eingenommen, wie ich noch heute glaube, aus guten Gründen. — Es ist ja sehr begreiflich, dass man immer wieder darauf ausgeht, ein Gas als Desinficiens für Wohnräume zu benutzen, das von einer Entwickelungsstelle aus den ganzen Raum gleichmässig durchdringt und die detaillirte Behandlung der einzelnen Objecte überflüssig macht. Aber wir haben mit solcher Gasdesinfection schlechte Erfahrungen gemacht. Sobald eine exacte Prüfung der Desinfectionswirkung vorgenommen wurde, zeigte es sich noch immer, dass mit den benutzten Gasen, z. B. Chlor, Brom, schweflige Säure eine quantitativ ausreichende Desinfection nicht zu erzielen war, ausser wenn die Concentrationen so gesteigert wurden, dass alle Gebrauchsgegenstände dauernd geschädigt wurden. Auch über die Vertheilung der Gase im Raum, über die Tiefe, bis zu der sie in die Objecte eindringen, und über die erforderliche Zeitdauer ihrer Einwirkung wurden sehr ungünstige Erfahrungen gesammelt. So konnte nur zu einer Zeit, wo noch jede exacte Prüfung und quantitative Bemessung von Desinfectionsmitteln fehlte, von einer Verwendung gasförmiger Desinficientien etwas erhofft werden.

Als die keimtödtende Wirkung des Formaldehydgases bekannt wurde, verfiel man in denselben Fehler wie bei der alten Desinfection mit Chlor und schwefliger Säure und vergass die bei dieser gewonnenen Lehren. Ohne Kenntniss der erforderlichen Concentration, der Vertheilung im Raum, der Tiefe des Eindringens, der nöthigen Zeitdauer der Wirkung proclamirte man das Formaldehyd als das beste Desinficiens für Wohnungen. Die Fabriken, welche das Formaldehyd in irgend einer Form darstellten, trugen durch übertriebene Reclame sehr dazu bei, im Publikum diese Ansicht zu verbreiten. Eine beliebige, aber durchaus unzureichende Menge Formaldehyd im Krankenzimmer entwickelt, sollte alle Krankheitskeime abtödten und sicheren Schutz vor Ansteckung gewähren. Wie das „Berliner Fremdenblatt" vom 22. Sept. d. J. berichtet, soll sogar letzthin in der Kaiserlichen Familie dadurch die Uebertragung der Krankheit eines

[1] *Berliner klin. Wochenschrift.* 1892. Nr. 30.

[2] *Compt. rend.* Bd. CXIV.

[3] *Münchener med. Wochenschrift.* 1893. Nr. 30 u. 35.

[4] Vgl. die sorgfältige Zusammenstellung der Litteratur bei Abba u. Rondelli. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXVII und in der *Inaug.-Diss.* von Hess, Marburg 1898.



der Prinzen verhindert sein, dass „auf Anordnung des behandelnden Stabsarztes täglich das Krankenzimmer und die daran stossenden Räume durch die Formalinlampe Hygiea desinficirt wurden." Da nicht angenommen werden kann, dass der behandelnde Stabsarzt sich von dieser nicht im Entferntesten den berechtigten Forderungen entsprechenden Formaldehydproduction irgend eine desinfectorische Wirkung versprochen hat, muss hier wohl eine grobe Entstellung des Sachverhaltes vorliegen. Die auf Grund solcher Reclamen weit verbreitete, völlig sinnlose Laiendesinfection mit Formalinlampen hat zweifellos viel Schaden angerichtet und im Publikum völlig unrichtige Vorstellungen hervorgerufen.

Allmählich wurden auch quantitative Desinfectionsversuche mit dem Formaldehyd angestellt; und je exacter und vollkommener diese gemacht wurden, um so schlechter fielen die Resultate aus. Den Ausführungen von Abba und Rondelli,[1] Petruschky[2] u. A., die eine Wohnungsdesinfection mit Formaldehyd für nicht zulässig erklären, musste man nach dem damaligen Stande unserer Erfahrungen durchaus beipflichten.

Von einem zur praktischen Desinfection geeigneten gasförmigen Desinficiens muss man 1. verlangen, dass es sich leicht und sicher in bestimmter, wenn möglich controlirbarer, Concentration in einem Raume herstellen lässt und dass bei dieser Concentration innerhalb einer bestimmten Zeit Absterben der Krankheitserreger eintritt. Bis in die neueste Zeit war eine derartige Formaldehydproduction nicht möglich. Man versuchte zuerst Lampen zu construiren, in welchen durch Oxydation von Methylalkohol Formaldehyd entwickelt wurde; aber die Ausbeute war viel zu gering. Sodann versuchte man Formalin, die wässerige 40procentige Lösung des Formaldehyds, zu erhitzen und so das Formaldehyd frei zu machen. Indess auch dabei erhielt man zu wenig Aldehyd, weil beim Concentriren der Lösung über 40 Proc. hinaus Polymerisirung, Bildung von festem, weissem Paraform, eintritt. Selbstverständlich war ausserdem die jeweilige Lüftung des Raumes durch die vorhandenen Undichtigkeiten von massgebendem Einfluss auf die erreichte Concentration des Gases. Eine Controle der erreichten Concentrationen fehlte vollständig; man blieb vielmehr völlig im Ungewissen, wie viel Aldehyd jedes Mal in dem zu desinficirenden Raum zur Wirkung gelangt war.

Daneben war für die Zwecke der praktischen Desinfection eine relativ kurze Dauer der Einwirkung des Desinficiens erforderlich, da die zu desinficirenden Räume in der Regel nicht für längere Zeit entbehrt werden

[1] A. a. O.

[2] *Verhandlungen des Congresses für innere Medicin.* 1898.



können; die Desinfection muss sich, wenn sie populär werden soll, unbedingt innerhalb eines Tages oder einer Nacht vollziehen lassen. Bis in die neueste Zeit hatte man aber eine ausreichende Wirkung des Formaldehyds in Wohnräumen nur bei 24- bis 36stündiger Dauer erzielt.

2. Von einem praktisch brauchbaren Desinficiens müssen wir verlangen, dass es bis in eine gewisse Tiefe der Objecte eindringt, nicht nur die oberflächlich gelagerten Krankheitserreger vernichtet. Zahlreiche übereinstimmende Versuche zeigten aber, dass das Formaldehyd nur Oberflächenwirkung leistet. Frische und angetrocknete Sputa, Eiter, Diphtheriemembranen wurden nicht vollständig durchdrungen; auf porösen Stoffen, Kleidern, Betten, Wäsche eingetrocknete Excrete wurden bei einer gewissen Dicke des Materials an der Innenseite nicht sicher desinficirt. Excrete in dünnsten Schichten oder in Form trockenen Staubes wurden nicht desinficirt, sobald eine etwas dickere Lage Stoff sie bedeckte; z. B. unter dem herabhängenden Aermel, oder in den Taschen, oder unter dem Kragen eines Rockes, ferner an der Stelle, wo Kleider, Betten, Matratzen auf einander oder auf anderen Gegenständen auflagen, wurde nicht desinficirt. Mit Excret beschmutzte Taschentücher, etwas zusammengeballt, wurden nicht desinficirt.

3. Durch das Desinficiens darf keine Beschädigung der Gebrauchsgegenstände erfolgen, und es darf kein Geruch hinterbleiben, der die Bewohnbarkeit des Raumes oder die Gebrauchsfähigkeit der Utensilien hindert. — Die Objecte wurden nun allerdings durch das Formaldehyd nicht beschädigt; auch hat man keine erheblichen Gesundheitsstörungen durch Formaldehyd beim Menschen beobachtet. Aber das Gas hat einen äusserst penetranten, die Schleimhaut der Augen und Nase heftig reizenden Geruch. Die Augen fangen an zu thränen; Reiz zum Niesen stellt sich ein; ebenso Kratzen im Halse. Das wird allmählich so unangenehm, dass man durchaus der Formaldehyd-Luft zu entfliehen strebt. Der Eine ist mehr, der Andere weniger empfindlich; für Jeden ist der Geruch äusserst belästigend. Der Geruch lässt sich durch Lüften sehr schwer beseitigen. Offenbar findet starke Flächenattraction durch Wände und Gegenstände statt, und selbst nach mehrtägigem Lüften ist der lästige Geruch sofort wieder da, wenn die Fenster geschlossen werden oder gar das Zimmer geheizt wird. In der Praxis ist schon aus diesem Grunde die Formaldehyddesinfection schlechterdings nicht verwendbar; wir würden die Bevölkerung, die nicht wissen kann, ob jene Reizerscheinungen nicht schlimmere Folgen nach sich ziehen werden, ganz gegen die Desinfection aufhetzen. — Merkwürdiger Weise erwähnen einige Autoren gar nichts von diesen Eigenschaften des Formaldehyds, oder behaupten, dass sich der Geruch leicht

durch Lüften entfernen lasse. Nur ein gewisser Fanatismus kann zu einer solchen Abstumpfung gegen den markanten Geruch führen.

4. Der Preis des Desinficiens ist ein relativ hoher und die ganze Desinfection mittels Formaldehyd voraussichtlich wesentlich theurer, als das bisherige Verfahren.

Alles in Allem lag somit kein Anlass vor, dem Formaldehyd eine umgestaltende Rolle in der Praxis der Desinfection zu prognosticiren. Aber die offenbare Insufficienz der bisherigen Methoden veranlasste verschiedene Hygieniker und auch mich immer von Neuem zu Versuchen, welche die Beseitigung jener Nachtheile der Formaldehyddesinfection zum Zweck hatten. Wirklich ist es jetzt endlich gelungen, ein für die Praxis brauchbares Verfahren zur Wohnungsdesinfection auf das Formaldehyd zu gründen, das allen bisher angewendeten Methoden weit vorzuziehen ist. Freilich haben allein die in meinem Institute unter Beihülfe der HHr. Dr. Neisser, Dr. Laschtschenko und Dr. Poleck angestellten Versuche eine Zeit von mehr als 2 Jahren in Anspruch genommen. — Den vier oben präcisirten Anforderungen an eine brauchbare Gasdesinfection lässt sich nunmehr in folgender Weise gerecht werden:

I. Herstellung der erforderlichen Concentration von Formaldehyd.

Für die sichere Herstellung einer wirksamen Concentration des Formaldehydgases in dem zu desinficirenden Raume concurriren jetzt fünf verschiedene Methoden (unter Fortlassung einiger unwesentlicher Modificationen). Mit allen ist eine Oberflächendesinfection in Wohnräumen erreichbar.

a) Methode von Trillat.[1] Formalin wird im Autoclaven unter ca. 3 Atmosphären Druck verdampft; um die Bildung von Paraform zu hindern, wird Calciumchlorid-Lösung zugesetzt (1000 ccm Formalin + 200 ccm Wasser + 200 grm Calciumchlorid). Der Autoclav bleibt vor der Thür des zu desinficirenden Zimmers stehen, das entweichende Gas wird durch's Schlüsselloch eingeleitet.

b) Methode von Rosenberg.[2] In einer Schale wird durch angezündete Presskohle Formalin verdampft; um die Bildung von Polymerisirungsproducten zu hindern, erfolgt Zusatz von 5 Proc. Menthol und zu dessen Lösung wird eine gewisse Menge Methylalkohol zugefügt. Wird im Zimmer in Apparaten verdampft, die ca. 1 Liter jener Mischung (Holzin) fassen.

[1] Roux u. Trillat, *Annales de l'Institut Pasteur*. 1896. — Bosc, *ebenda*.

[2] *Diese Zeitschrift*. Bd. XXIV.



c) Schering's Methode.[1] Das feste Polymerisirungsproduct des Formaldehyds, Paraformaldehyd oder Trioxymethylen wird in Pastillenform gebracht. In einem „Aesculap“ benannten kleinen Apparat werden die Pastillen, deren jede 1 grm wiegt, über einer Spirituslampe erhitzt, so dass die entstehenden Formaldehyddämpfe mit den Verbrennungsgasen gemischt und von diesen mitgerissen werden. Ein Apparat fasst 250 Pastillen. Die Spiritusmenge wird so bemessen, dass die Brenndauer zur Vergasung aller Pastillen ausreicht. Aufstellung im Zimmer und Anzünden vor dem Verlassen des dann geschlossenen Zimmers.

d) Methode von Walter-Schlossmann. In einem besonderen Apparat wird mittels eines Spiritusbrenners Wasser verdampft; der Dampf drückt auf eine Mischung aus Formalin mit Glycerin (10 proc.), Glycoformal genannt, und treibt dieses in Form eines feinen Nebels aus mehreren engen Oeffnungen heraus. Der Zusatz von Glycerin soll wiederum der Polymerisirung des Formaldehyds entgegenwirken. Aufstellung im Zimmer.

e) Eine neuerdings im hiesigen hygienischen Institut ausprobirte Methode beruht auf folgendem Princip: die gefürchtete Bildung von Paraform in der 40 procentigen Formaldehydlösung, dem Formalin, tritt nur dann in höherem Grade ein, wenn das Formalin weiter eingedickt wird, so dass die Concentration des Formaldehyds über 40 Proc. hinausgeht. Da das Formaldehyd aber auch aus verdünnten Lösungen durch Erhitzen leicht ausgetrieben wird, braucht man nur solche verdünnte Lösungen bis zu einem gewissen Rest einzudampfen; man erhält dann reichliche Aldehydmengen in Gasform und der Rest wird nicht so concentrirt, dass Umwandlung in Paraform eintritt. Man nimmt ferner an, dass auch das gasförmige Formaldehyd im Wohnraume sich leicht wieder polymerisirt, dass dies aber durch reichlichen Wasserdampf verhindert wird. Beim Verdampfen verdünnten Formalins bekommt man aber gleichzeitig so viel Wasserdampf, dass man auch in dieser Beziehung geschützt ist. — Aus einer Tabelle kann der Desinfector leicht entnehmen, wie viel Flüssigkeit bei einer bestimmten Zimmergrösse verdampft werden muss, wie die Verdünnung zu wählen ist und wie viel Spiritus zur Verdampfung erforderlich ist. Die Verdampfung geschieht im Zimmer oder in besonderen Fällen (s. unten) vor dem Zimmer in einfachen Apparaten, die allerdings constante Beziehungen zwischen Brenner, Heizfläche, Inhalt u. s. w. haben müssen, um eine Benutzung der Tabellen zu gestatten. Die nähere Beschreibung erfolgt in einer demnächst erscheinenden Abhandlung Dr. von

[1] Aronson, *Diese Zeitschrift.* Bd. XXV.



Brunn's, der die genauere Ausarbeitung des Verfahrens übernommen hat.[1]

Es fragt sich nun, wie viel Formaldehyd muss nach einer dieser Methoden für eine bestimmte Raumeinheit, z. B. 100 ^{cbm} entwickelt werden, um volle Desinfection zu erzielen? Diese Ziffer ist jetzt durch sehr zahlreiche Versuche verschiedenster Autoren mit Testbakterien festgestellt. Die Angaben der Autoren harmoniren allerdings nicht immer. Dies liegt vor Allem daran, dass nicht Alle die als Testobjecte benutzten Bakterien nach der Desinfection in günstigste Bedingungen, d. h. in flüssige Nährböden, Bouillon oder Blutserum gebracht haben. Prüft man nur mit Nährgelatine, so bekommt man leicht eine Abtödtung vorgetäuscht. Es ist bequem, bei solchen Prüfungen zunächst Gelatine als Nährboden zu verwenden; ergeben aber diese Versuche Abtödtung, so müssen unbedingt die gleichen Concentrationen unter Benutzung von Bouillon bei 37° nachgeprüft werden. — Ausserdem sind die verschiedenen Resultate auf ungleich widerstandsfähige Testbakterien, verschiedene Schichtdicke, verschiedene Trockenheit der Testobjecte und der Luft u. dergl. mehr zurückzuführen.

Wir haben im Breslauer hygienischen Institut mit allen oben aufgezählten Methoden gearbeitet und zahlreiche vergleichende Versuche angestellt; die meisten Resultate verdanke ich dem unermüdlichen Fleisse des Privatdocenten Dr. Neisser, auf dessen Versuche sich alle in den angehängten Tabellen aufgeführten Zahlen stützen.

Zwei äussere Momente treten aber bei diesen vergleichenden Versuchen noch als ungemein wirkungsvoll für die quantitative Dosirung des Formaldehyds hervor. Berücksichtigt man diese nicht, so lässt sich überhaupt keine einheitliche Zahl für die erforderliche Aldehydmenge aufstelllen.

Das erste Moment ist die äusserst verschiedene Dichtigkeit der Räume. Bei gleicher Production von Aldehyd erhält man in Räumen mit groben Undichtigkeiten und starker Ventilation, also namentlich wenn Luftheizungsklappen, Kamine, Ofenthüren u. s. w. offen oder schlecht schliessende Fenster und Thüren vorhanden sind, ganz ungenügende Concentrationen von Aldehyd in der Zimmerluft, während dieselben in dichteren Räumen vollkommen zur Desinfection ausreichen. Hier müssen also gleiche günstige Verhältnisse hergestellt werden durch möglichst vollkommene Abdichtung aller zu desinficirenden Räume. Man hat früher wohl bezweifelt, dass das in einer praktisch brauchbaren Weise

[1] Die Apparate sind nach dieser Beschreibung leicht herzustellen, nur muss geprüft werden, ob die Leistungen der construirten Apparate den Angaben der Tabelle entsprechen. Zur Zeit sind die Apparate in richtiger Ausführung nebst Tabellen bereits zu beziehen von der Schering'schen Fabrik, Berlin N. Müllerstr. 170,



geschehen könne. Aber allmählich haben wir eine so einfache und doch sichere Technik der Abdichtung durch Versuche in der Praxis ausgebildet, dass jede Colonne dieselbe rasch erlernen kann. Die genaue Anweisung ist in der am Schlusse angefügten „Instruction" enthalten. In der Hauptsache benutzen wir Wattestreifen, wie sie von den Friseuren zum Auffangen der abgeschnittenen Haare unter die Hemdkragen geschoben zu werden pflegen. Diese werden mit Sublimatlösung befeuchtet, kräftig wieder ausgedrückt und dann in die Ritzen und Fugen der Fenster und Thüren mittels eines stumpfen Messers oder Spatels eingedrückt. Feinere Ritzen und Sprünge werden mit Kitt verschmiert. Ventilationsöffnungen u. dergl. werden mittels Kleisters mit festem Packpapier überklebt (der Kleister lässt sich mit warmem Wasser nachher wieder vollständig entfernen, was bei Leim nicht gelingt). — Die ganze Procedur dauert im Durchschnitt 20 Minuten; in kleineren Räumen kürzer, in grösseren entsprechend länger. Sehr zahlreiche praktische Versuche haben mir gezeigt, dass die in dieser Weise abgedichteten Räume wirklich als gleichwerthig in Bezug auf diejenige Aldehydmenge anzusehen sind, welche pro Cubikmeter zur Herstellung einer bestimmten Concentration entwickelt werden muss.

Es wird als ein Vortheil der sub d) genannten Walter-Schlossmann'schen Methode bezeichnet, dass eine Abdichtung der Räume dabei nicht erforderlich sei. In der That bekommt man mit dieser Methode noch Abtödtung der Testbakterien, wenn die Abdichtung weniger sorgfältig durchgeführt ist. Das liegt aber daran, dass die Vorschrift für das Walter-Schlossmann'sche Verfahren den Desinfector anweist, die 4fache Masse von Formaldehyd in die Raumeinheit einzutreiben wie bei den übrigen Methoden. Wenn daher auch $^2/_3$ und mehr des producirten Formaldehyds durch die Undichtigkeiten des Raumes entweichen, so ist immer noch die genügende Concentration vorhanden. Alle Undichtigkeiten lassen sich aber auch hier nicht in Kauf nehmen, bei lebhaft ventilirten Räumen wird die erforderliche Concentration nicht erreicht. Da sich über den Grad der Ventilation nichts aussagen und somit keine Grenze normiren lässt, jenseits welcher Abdichtung trotzdem erfolgen muss, so ist es für die Praxis jedenfalls das einzig Richtige, in jedem Falle sorgfältig und vollständig abzudichten. Dann sind die überschüssig in den Raum geworfenen Aldehydmassen, welche das Schlossmann'sche Verfahren vorschreibt, unnöthig; und nicht nur das, sondern sie sind geradezu ungünstig für die Praxis der Desinfection, denn — wie wir unten sehen werden — lassen diese grossen Aldehydmassen sich nicht wieder aus dem Raum genügend herausschaffen und steigern ausserdem den Preis des Verfahrens zu sehr. — Uebrigens kann man auch mit den anderen Methoden, namentlich mit den sub e) genannten, leicht einen

ebenso grossen Ueberschuss von Desinficiens produciren und dann kann hier die Abdichtung in demselben Maasse gespart werden. Aber es würde das nur auf eine zwecklose und in der Praxis unzulässige Vergeudung hinauslaufen.

Das zweite auf den Grad der erforderlichen Concentration einflussreiche Moment ist die Luftfeuchtigkeit. In trockener Luft wirkt trockenes Formaldehydgas wenig desinficirend. Es ist das die gleiche Erfahrung, die man früher bei anderen Desinficientien, Hitze, Chlor, schwefliger Säure, bei Verdampfung von festem Sublimat u. s. w. gemacht hat. Erst eine gewisse Durchfeuchtung der Objecte ermöglicht das Eindringen des Desinficiens. Für das Formaldehydgas kommt noch hinzu, dass seine Polymerisirung durch reichlichen Wasserdampfgehalt der Luft hintangehalten wird.

Mit diesem Moment haben namentlich die Methoden a, b und c zu wenig gerechnet. Bei allen dreien wird relativ wenig Wasserdampf producirt und bei warmer trockener Luft erfolgt dann unvollständige Abtödtung der Bakterien. Wenn einige Autoren dies nicht beobachtet haben, so ist der Grund der, dass sie zufällig nicht in grösseren Räumen und bei stärkerem Sättigungsdeficit gearbeitet haben, oder der, dass sie das Ueberleben der Testbakterien nicht in flüssigen Nährsubstraten bei 37° geprüft haben.

Um auch in dieser Beziehung einheitliche Verhältnisse herzustellen, ist es am zweckmässigsten, regelmässig die Luft des zu desinficirenden Raumes mit Wasserdampf zu übersättigen, so dass leichte Condensation — ohne sichtbare und anhaltende Durchnässung — auf allen Flächen und Gegenständen eintritt. Bei der Schlossmann'schen und bei der in unserem Institut neuerdings ausgebildeten Methode wird die dazu erforderliche Menge Wasserdampf bei der Production des Formaldehyds gleich mitgeliefert. Bei den anderen Methoden muss extra Wasser verdampft werden und zwar pro 100 cbm Zimmer etwa 3 Liter Wasser (entsprechend der Sättigung bei ca. 30° C.). In einem flachen, eine grosse Heizfläche darbietenden Blechgefäss, das im Deckel eine ziemlich feine Abströmungsöffnung besitzt, lässt sich diese Wassermenge innerhalb einer Stunde durch Verbrennen von 1 Liter Spiritus verdampfen. Bei kleineren Räumen ist die Wasser- und Spiritusmenge entsprechend geringer zu wählen, bei grösseren sind 2 bezw. mehr Wasserdampfentwickeler aufzustellen. Die Schering'sche Fabrik hat neuerdings einen Apparat construirt, in welchem die Wasserverdampfung mit der Pastillenvergasung combinirt ist; für die Praxis offenbar ein sehr zweckmässiges Arrangement. — In dieser Weise bekommt man gleichsam eine Durchtränkung aller Flächen im Raum mit Condenswasser, in dem das Formaldehyd ge-



löst ist, und damit die günstigsten Bedingungen für den Desinfectionseffect.[1] — Eigenthümliche Schwierigkeiten bereiten dann nur noch warme Oefen, durch Kamine stark erwärmte Stellen der Wand. An diesen fehlt die Condensation, und die dort exponirten Testbakterien werden ungenügend abgetödtet. Ein solcher Fall, dass gerade jene warmen Stellen mit Krankheitserregern beladen sind, kommt aber in der Praxis kaum ernstlich in Betracht; im Allgemeinen wird man ihn ignoriren können. Will man — wie z. B. in Operationssälen — die Vorsicht bis auf's Aeusserste treiben, so muss bis zur Erkaltung der Heizkörper gewartet werden oder diese müssen mit Formalin- oder Sublimatlösung abgewaschen werden.

Unter Berücksichtigung der beiden besprochenen einflussreichen Momente, d. h. nach völliger Abdichtung der Räume und nach Sättigung der Luft mit Wasserdampf, lässt sich in einheitlicher Weise die Formaldehydmenge festlegen, welche pro 100 ^{cbm} Raum zur Desinfection ausreicht. Ein kleiner Unterschied kommt noch durch die sehr verschiedene Grösse der Zimmer zu Stande. In kleinen, mit Mobiliar und Gebrauchsgegenständen vollgestopften Räumen ist für die Sättigung aller Flächen mit Wasserdampf und Formaldehyd relativ mehr erforderlich als für grosse leere Räume. Für letztere kommt man mit 200 ^{grm} Formaldehyd pro 100 ^{cbm} reichlich aus; für kleinere Räume sind mindestens 250 ^{grm} pro 100 ^{cbm} erforderlich. In der Desinfectionspraxis wird man gut thun, letztere Zahl, also 250 ^{grm} Formaldehyd pro 100 ^{cbm} Raum, als Minimalzahl zu Grunde zu legen. Bei der dadurch gewonnenen Concentration werden Diphtheriebacillen, Streptokokken, resistente Staphylokokken, Tuberkelbacillen, Milzbrandsporen mittlerer Resistenz in mit Bouilloncultur durchtränkten Läppchen, bezw. in Eiter, Sputum, Membranen ausnahmslos abgetödtet. Ob die Testproben dabei am Fussboden, oder an der Decke, in Ecken der Fenster und des Fussbodens, unter irgend welchen mit Füssen versehenen Möbeln, im hinteren Abschnitt weit aufgezogener Schubladen sich befanden, oder ob sie von einer leichten Stoffschicht unmittelbar bedeckt waren, das machte für die Sicherheit der Desinfection nichts aus. Aus der zum Schlusse gegebenen Auswahl von Versuchsprotocollen Dr. Neisser's ist dies klar zu ersehen. Keine Abtödtung erfolgte dagegen bei dicken Schichten von Sputum, bei dicken durchtränkten Stoffen, in geschlossenen oder nur wenig vorgezogenen Schubladen, unter Möbeln, Betten u. s. w., die vom Fussboden oder anderen Gegenständen geringen Abstand hatten. Nicht vollständige Abtödtung erfolgte selbst bei manchen oberflächlichen Proben, wenn nicht für Sättigung der Luft mit Wasserdampf gesorgt war.

[1] Vgl. die Abhandlung von Peerenboom. *Hygien. Rundschau.* 1898. Nr. 16.



Eigentlich lässt sich freilich eine Concentration gar nicht normiren, ohne dass man gleichzeitig die erforderliche Zeitdauer der Einwirkung festsetzt. Selbst bei geringeren Concentrationen, als vorstehend angenommen, kann volle Desinfection erzielt werden, wenn man die Dauer der Einwirkung auf 24 bis 36 Stunden ausdehnt. Für die praktische Desinfection sind aber in dieser Beziehung enge Grenzen gezogen. Die Desinfection muss innerhalb höchstens 12 Stunden ganz und gar fertig sein, so dass das Zimmer wieder bewohnbar ist; für längere Zeit kann der grösste Theil des für die Desinfection hauptsächlich in Betracht kommenden Publikums das Krankenzimmer nicht entbehren. Vorarbeiten und Nacharbeiten erfordern bei der Formalindesinfection, wie wir unten sehen werden, immerhin einige Stunden; die Einwirkungsdauer des entwickelten Gases sollte daher aus praktischen Gründen eine Zeit von 6 bis 8 Stunden nicht überschreiten. Die oben angegebene Concentration ist nun in der That so gewählt, dass dadurch innerhalb 7 Stunden sichere Abtödtung der in Betracht kommenden Krankheitserreger erzielt wird. — Vollständig lautet daher die Vorschrift:

Für je 100 ^{cbm} Raum sind nach sorfältiger Abdichtung und unter gleichzeitiger Sättigung der Luft mit Wasserdampf 250 ^{grm} Formaldehyd zu entwickeln, und diese müssen 7 Stunden Zeit zur Einwirkung haben.

Man kann daran denken, die Zeit der Einwirkung noch weiter herabzusetzen und dafür die Menge des Formaldehyds zu steigern. Bei der Schlossmann'schen Methode wird dies in der That durchgeführt; die Formaldehydmenge wird auf das 3- bis 4fache der oben angegebenen Norm gesteigert und die Zeit dafür auf 2 bis 3 Stunden reducirt.

Auch die sub e) aufgeführte Methode aus dem Breslauer Institute lässt sich sehr leicht in demselben Sinne modificiren. Durch Versuche Dr. v. Brunn's mit dem Breslauer Apparat ist in der That festgestellt, dass bei doppelter Concentration, also 500 ^{grm} Formaldehyd für 100 ^{cbm} Raum, schon die halbe sonst erforderliche Zeit, — $3^1/_2$ Stunden — für den gleichen desinfectorischen Effect ausreicht. Damit ist für zahlreiche praktische Fälle, insbesondere kleine Wohnungen, die nicht lange entbehrt werden können, ein ganz erheblicher Vortheil verbunden, der die Einführung der obligatorischen Formaldehyd-Desinfection sehr erleichtern wird. — Mit der Abkürzung der Zeit und Steigerung der Formaldehydmenge noch weiter und so weit zu steigern, wie es bei der Schlossmann'schen Methode geschieht, halte ich jedoch aus praktischen Gründen für durchaus nicht indicirt. Mit der Menge des Formaldehyds steigern wir zugleich die Schwierigkeiten der nachfolgenden Desodorisation, die für die Praxis ungemein wichtig ist. Ausserdem steigern wir die Kosten, da



sowohl das Plus von Formaldehyd, wie das Plus von Ammoniak, das zur Desodorisirung verwendet wird, in Rechnung gesetzt werden muss. Ferner ist neben der Formaldehydgasdesinfection immer noch eine Sonderdesinfection gewisser Effecten erforderlich, auf die ich später zurückkomme, und diese beansprucht ebenfalls eine längere Einwirkungsdauer, nicht unter 3 Stunden. Mit halber Zeit und doppelter Concentration dürfte daher die praktisch empfehlenswerthe Grenze erreicht sein.

Um die für eine 7 stündige Einwirkungsdauer nöthige Menge von 250 grm Formaldehyd pro 100 cbm Raum zu produciren, kann man die verschiedenen, oben aufgeführten Methoden benutzen. Im Trillat'schen Apparate sind ca. 700 ccm Formochlorol zu verdampfen, in den Apparat einzufüllen mindestens 1000 ccm. Von Holzin sind etwa 750 ccm pro 100 cbm im Rosenberg'schen Apparate zu verdampfen. Von den Schering'schen Pastillen sind 250 Stück à 1 grm pro 100 cbm abzuzählen und zu vergasen. Bei allen 3 Methoden sind ausserdem 3 Liter Wasser pro 100 cbm zu verdampfen. — Das Schlossmann'sche Verfahren arbeitet, wenn nach Vorschrift verfahren wird, bei 7 stündiger Dauer mit einem grossen Ueberschusse; für 80 cbm Raum sollen 2 Liter Glycoformal verbraucht werden, d. h. pro 100 cbm ungefähr 900 grm Formaldehyd. Die insgesammt verdampfte, bezw. versprayte Flüssigkeitsmenge beträgt gegen 4 Liter. — Nach der Breslauer Methode werden für 100 cbm Raum 660 ccm Formalin (= ca. 250 grm Formaldehyd) + 2340 ccm Wasser, zusammen 3000 ccm, verdampft, und es bleibt ein Rückstand von ca. 1000 ccm Flüssigkeit; einzufüllen ist daher ein Gemisch von 800 ccm Formalin + 3200 ccm Wasser. Die Variationen des Gemisches für andere Dimensionen sind mittels der dem Apparate beigegebenen Tabelle sehr leicht festzustellen.

Um die für eine $3^1/_2$ stündige Einwirkungsdauer nöthige Menge von 500 grm Formaldehyd pro 100 cbm Raum zu liefern, müssen nach der Breslauer Methode 1320 ccm Formalin + 2400 ccm Wasser verdampft und etwa 1500 ccm Formalin + 3200 ccm Wasser in den Apparat eingefüllt werden. — Im Trillat werden 1400 ccm Formochlorol zu verdampfen sein; dazu müsste pro 100 cbm Raum ein Wasserdampfentwickler aufgestellt werden; hierüber liegen noch keine praktischen Versuche vor. — Die Schering'sche Pastillenmethode erfordert bei dieser Art der Desinfection in grösseren Raumen zu viel Apparate (pro 100 cbm 2 Aeskulaps und 1 Wasserdampfentwickler) und wird zu theuer.

Alle genannten Methoden, und wahrscheinlich noch manche andere Modificationen, die im Laufe der Zeit erfunden werden, lassen sich unter den angegebenen Cautelen zur Desinfection von Wohnräumen benutzen. Es fragt sich nur, welche empfiehlt sich am meisten für die Praxis? Hier kommen Handlichkeit des Apparates, Einfachheit des Verfahrens,



Anschaffungs- und Verbrauchskosten in Betracht, zum Theil Dinge, die von dem Einen nicht gerade so beurtheilt werden wie von dem Anderen. Eine objective Entscheidung lässt sich daher schwer treffen. — Gegen den Trillat'schen Apparat habe ich einzuwenden, dass der Apparat sehr theuer und schwer zu bedienen ist; ausserdem erfordert die Aufstellung ausserhalb des Zimmers bei grösseren Räumen die mehr als stundenlange Anwesenheit des Desinfectors, nur um die Verdampfung zu überwachen; alle anderen Apparate beanspruchen dies nicht. — Das Rosenberg'sche Verfahren ist für grössere Räume wenig probiert, namentlich nicht mit gleichzeitiger Wasserdampfentwickelung; die Zugabe des Methylalkohols und des Menthols erscheint jedenfalls als unnötige Vertheuerung. — Sehr bestechend ist das Schering'sche Verfahren durch die leichte Dosirung und die einfache, sichere Formaldehydentwickelung. Wir haben die Mehrzahl unserer praktischen Versuche mit diesem Verfahren gemacht, und die Desinfectionscolonne hat so zuverlässig und so gern damit gearbeitet, dass wir jede weitere Modification für überflüssig gehalten haben würden, wenn nicht der Preis der Pastillen ein relativ hoher wäre. — Die Schlossmann'sche Methode halte ich für am wenigsten empfehlenswerth. Wie ich schon hervorgehoben habe, ist der Ueberschuss, mit dem sie arbeitet, unmotivirt; die Kosten werden unnöthig erhöht, auch die Spray-Apparate sind theuer. Vor allem aber wird die Methode für die Praxis geradezu unbrauchbar erstens dadurch, dass das Glycerin mit versprayt wird, das auf allen Flächen und Gegenständen einen schlierigen Ueberzug bewirkt, zweitens dadurch, dass im Raume und an den Gegenständen ein sehr belästigender Formaldehydgeruch zurückbleibt. Der schlierige Ueberzug ist von Betten, Kleidern etc. durch Abwischen kaum vollständig wieder zu entfernen, und jedenfalls halten diese Gebrauchsgegenstände den reizenden Geruch des Formaldehyds ausserordentlich zähe zurück. An eine baldige Wiederbenutzung solcher Betten und Kleider ist nicht zu denken. Dazu kommt, dass z. B. feinere Polituren bei der Schlossmann'schen Desinfection trübe und fleckig werden. Wir haben hier also theilweise dauernde Beschädigung von Objecten, theils Unbenutzbarkeit für längere Zeit. Das ist aber genügend, um die Desinfection als praktisch völlig unbrauchbar zu bezeichnen.

Eine Verbesserung der Schlossmann'schen Methode würde entschieden darin bestehen, dass die Versprayung unter Fortlassung des Glycerins mit reinem Formalin erfolgt.[1] Ausserdem aber müsste auch die

[1] Der Apparat von Czaplewski, dessen Beschreibung (*Münch. med. Wochenschrift*, 1898, Nr. 41) mir erst während des Druckes bekannt wurde, arbeitet mit reinem Formalin.



Menge des Formalins vermindert werden; dann aber fehlt es an Wasserdampf, der extra producirt werden muss; und schliesslich ist es dann doch noch viel einfacher und billiger, das Formalin nach der Breslauer Methode zu verdampfen, als durch einen theueren und gewiss oft der Reparatur bedürftigen Dampfspray zu verspritzen.

Unsere neue Breslauer Methode, bei der verdünntes Formalin in einem gewöhnlichen Kochapparat verdampft wird, scheint mir die einfachste zu sein. Namentlich seit wir erkannt haben, dass bei Verwendung des Trillat und der Schering'schen Pastillen immer noch eine besondere Verdampfung von Wasser hinzukommen muss, haben diese Methoden eine Complication erhalten, welche bei unserem Verfahren ganz wegfällt. Das Abmessen des Formalins, des Wassers und des Spiritus, das Einfüllen in die einfachen Behälter und das Anzünden ist alles, was zu dieser Art von Formaldehydproduction gehört; im Uebrigen vollzieht sich die Desinfection ganz automatisch. — Dazu kommt, dass sich die Methode auch in einfachster Weise für doppelte Concentration und halbe Zeit, ferner inner- und ausserhalb des Zimmers verwenden lässt. In den sehr engen, oft nur 20 bis 30 cbm messenden, mit Sachen überfüllten Räumen ärmerer Leute ist die Aufstellung mit Spiritus geheizter Apparate nicht ganz ohne Bedenken. Ausserdem sind dies die Fälle, wo die Zeitdauer, wenn irgend möglich, auf $3^1/_2$ Stunden reducirt werden muss. Beiden Forderungen genügt die Breslauer Methode in einfachster Weise. Der Verdampfungsapparat wird vor der gedichteten Thür des Zimmers aufgestellt, die Abströmungsöffnung mittels Kautschuckschlauchs mit dem im Schlüsselloch steckenden Ansatzronr verbunden, das später für die Ammoniakeinleitung so wie so nöthig ist. Dann wird der Spiritus entzündet und im Beisein des Desinfectors verbrannt. Bei den kleinen Räumen, für welche diese Anordnung ausschliesslich in Betracht kommt, dauert das Abbrennen des Spiritus und der dadurch bedingte Aufenthalt des Desinfectors nur ca. $^1/_2$ Stunde. In Räumen über 60 cbm wird die Aufstellung des Apparates im Zimmer fast stets in einwandfreier Weise möglich und dann vorzuziehen sein. Wo es angeht, sollte auch an der einfachen Concentration und 7 stündiger Einwirkung festgehalten werden schon des billigeren Preises wegen.

Erwünscht würde es noch sein, wenn die in einem Raume erreichte Concentration von Formaldehyd durch irgend ein Testobject so controlirt werden könnte, dass sich in der Praxis davon Gebrauch machen lässt. In dieser Richtung haben wir uns viel Mühe gegeben, ohne dass wir zu einem befriedigenden Resultat gekommen wären. Schon andere Autoren haben die Verfärbung, die das Fuchsin durch Formaldehyd er-



fährt, zu benutzen versucht; aber die Farbenänderung ist zu geringfügig und inconstant. Ferner ist die Härtung und das Unlöslichwerden von Gelatine durch Formaldehyd empfohlen; aber eine Construction von solchen Gelatinetestobjecten, die gerade durch eine bestimmte Concentration von Formaldehyd ohne Rest gehärtet werden, ist noch nicht recht gelungen. Wir haben den etwa löslich gebliebenen Rest von Gelatine durch Fuchsin, das sich mit Wasser leicht extrahiren lässt, kenntlich zu machen gesucht, und haben z. B. mit Gelatinewürfeln (aus 20 procent., mit Fuchsin versetzter Gelatine) von 15^{mm} Seite einigermassen Erfolg gehabt. Waren dieselben in den Räumen aufgehängt und war die Formaldehydmenge ausreichend zur Desinfection gewesen, so war ein solcher Würfel in der Regel völlig gehärtet und nach dem Zerschneiden und Einwerfen der Stücke in Wasser löste sich kein Fuchsin. Bei ungenügender Concentration trat dagegen Lösung des Fuchsins auf. Aber die Resultate waren bei weitem nicht constant und scharf genug, als dass sich die Probe praktisch verwerthen liesse. — Czaplewski empfahl, die mit Fuchsin versetzte Gelatine zunächst durch schweflige Säure zu entfärben; in solchen Stücken tritt dann bei der Einwirkung von Formaldehyd die Fuchsinfarbe wieder auf, um so tiefer, je stärker die Concentration war. Auch mit dieser Methode haben wir indess befriedigende Resultate bisher nicht erzielt. — Eine besondere Schwierigkeit liegt darin, dass die Testobjecte uns eigentlich über zweierlei Auskunft geben müssten: über die erreichte Concentration des Formaldehyds und über die Zeitdauer der Einwirkung. Ausserdem aber ist bei reichlicher Wasserdampfentwickelung der Gehalt der Luft an Formaldehyd einem sehr schnellen zeitlichen Wechsel unterworfen durch die fortgesetzte Condensation. Dr. von Brunn wird über dieses eigenthümliche Verhalten Genaueres berichten.

Es kann daher dieses Desiderat einstweilen nicht erfüllt werden. Insofern liegt darin kein erheblicher Nachtheil der Methode, als den Bedingungen, von denen ein Erreichen der richtigen Concentration und der völligen Desinfection abhängt, ausserordentlich leicht zu genügen ist. Die Production der erforderlichen Aldehydmenge vollzieht sich so automatisch, dass hierfür eine Controle kaum nöthig ist; das Abdichten der Räume — der andere Factor, von welchem die Concentration abhängt — ist ebenfalls nach der unten gegebenen Instruction leicht und sicher auszuführen, und kann ausserdem durch einen Controlbeamten vor dem Anzünden der Verdampfungsapparate oder nach Ablauf der Desinfection gelegentlich revidirt werden. Schon hierdurch sind wir in Bezug auf Controlirbarkeit und Zuverlässigkeit des Verfahrens ausserordentlich viel besser daran, als bei dem früher geübten Desinfectionsverfahren.



II. Abhülfe gegen die Beschränkung der Formaldehydwirkung auf die freien Oberflächen der Objecte.

Aus den vorstehenden Ausführungen erhellt, dass wir jetzt in der Lage sind, in einer für die Praxis brauchbaren Weise Formaldehyd in solcher Concentration zu entwickeln, dass innerhalb 7 bezw. $3^1/_2$ Stunden sichere Oberflächendesinfection eintritt.

Aber damit ist noch lange kein praktisch brauchbares Desinfectionsverfahren fertig. In der Praxis sind die Krankheitserreger nicht so gelagert, wie in unseren gewöhnlichen Testobjecten; die oberflächlich gelegenen sind meist in der Minderzahl, viele befinden sich in der Tiefe beschmutzter Stellen der Taschentücher, der Bettwäsche oder des Fussbodens, in und unter den Falten der Kleider, oder unter irgend einer Bedeckung, bezw. auf derjenigen Oberfläche von Betten, Kleidern u. s. w., welche anderen Gegenständen aufliegt. Und an allen diesen zahlreichen Stellen findet durch keines der Verfahren zur Formaldehydentwickelung Abtödtung statt.

Selbst wenn also für quantitative Bemessung von Concentration und Zeitdauer gesorgt ist, ist die Desinfection des betreffenden Wohnraumes noch durchaus nicht als gelungen anzusehen. Nicht nur Laien, sondern auch viele Aerzte machen sich in dieser Beziehung ganz falsche Vorstellungen. Ob sie diese oder jene Methode der Formaldehydproduction anwenden, darauf kommt viel weniger an; aber mit dem in den Raum eingeführten Formaldehyd alle vorhandenen Krankheitserreger abzutödten, denselben also wirklich zu desinficiren, darin liegt die eigentliche Schwierigkeit. Die Fabriken vollends, die eine neue Methode der Formaldehydproduction in Handel bringen, nehmen gar keine Notiz von dieser Schwierigkeit und denken, dass, wenn sie nach ihrer Methode eine gewisse Menge Formaldehyd entwickelt haben, dann auch die Desinfection fertig ist.

Wollen wir mit dem Formaldehyd eine wirkliche Desinfection von Wohnräumen leisten, so müssen wir offenbar Abhülfemassregeln und Ergänzungen finden, durch welche erreicht wird, dass alle oder nahezu alle in dem Wohnraume vorhandenen Krankheitserreger, nicht nur die oberflächlich exponirten, abgetödtet werden. Erst durch diese Massregeln wird aus der Formaldehydentwickelung ein praktisch anwendbares Desinfectionsverfahren.

Die erforderlichen weiteren Massregeln sind folgende:

1. Aus der Reihe der Krankheiten, für welche die Desinfection in Frage kommt, sind einige auszuscheiden, bei welchen die Formaldehyddesinfection entschieden nicht indicirt ist. — Dahin gehören namentlich



Cholera asiatica, Abdominaltyphus und Ruhr. Bei diesen Krankheiten findet eine beschränkte Ausstreuung der Krankheitserreger nur auf Wäsche, Betten, Kleider, Ess- und Trinkgeschirr und die nächste Umgebung des Bettes statt, hier aber ist meist mit einem tieferen Eindringen der Exkrete zu rechnen, oder damit, dass letztere dickere Schichten bilden, die vom Formaldehydgas nicht sicher durchdrungen werden. In diesen Fällen ist es einfacher und zuverlässiger, Wäsche, Betten und Kleider im Dampfofen, Ess- und Trinkgeschirr in kochendem Wasser zu desinficiren. Ausserdem braucht nur die Bettstelle und die nähere Umgebung derselben (Fussboden, Wand) durch reichliches Befeuchten mit Sublimat- oder Carbollösung und der Abort mit Kalkmilch oder Chlorkalk desinficirt zu werden. Ein Berücksichtigen der an entfernte Wände, Möbeln, Bilder, an die Decke u. s. w. etwa verschleppten Krankheitserreger ist hier sicher nicht erforderlich. Unsere bisherige Desinfection geht bei den genannten Krankheiten weit über das erforderliche Maass hinaus. Wird sie in der angegebenen Weise beschränkt, so wird sie sehr an Popularität gewinnen, selbst wenn das Hinausschaffen der Sachen aus dem Hause und die unbeliebte Dampfdesinfection bestehen bleiben.

Ferner reicht bei Kindbettfieber, Eiterungen, Erysipel, Sepsis — Krankheiten, die in der Hauptsache nur in Krankenhäusern, dann aber um so sorgfältiger Desinfection erheischen — die Formaldehyddesinfection nicht aus, weil wir auch hier gewöhnlich mit tieferem Eindringen der Exkrete in Betten u. s. w. zu rechnen haben. Andererseits ist bei den genannten Krankheiten aber weitere Ausstreuung der Krankheitserreger in Staub- und Tröpfchenform zu befürchten, und so kommen wir also in diesen Fällen zu einer Combination von Dampfdesinfection für Betten, Kleider, Wäsche und Formaldehyddesinfection für den Wohnraum und die übrigen Gegenstände.

Auch bei Pocken und Pest wird überall da, wo tieferes Eindringen von Exkreten namentlich in die Betten vermuthet werden darf, die gleiche combinirte Desinfection am Platze sein.

Das sind aber alles nur Fälle, in denen ausnahmsweise die Desinfection einzugreifen hat. Nach Ausweis der Büreaus werden die Desinfectionscolonnen ganz wesentlich in Anspruch genommen durch Diphtherie (bis 80 Procent und mehr aller Desinfectionen), ferner durch Scharlach und Phthise, bei denen übrigens nur auf Wunsch der Angehörigen desinficirt zu werden pflegt. Zuweilen kommen dazu gehäufte Fälle von Masern und Influenza.

Unser Bestreben muss darauf gerichtet sein, gerade bei diesen Krankheiten, die das Hauptcontingent für die Desinfectionen stellen, mit der

Formaldehyddesinfection auszukommen, und namentlich das umständliche und unpopuläre Fortschaffen von Objecten aus dem Hause zu vermeiden.

Das lässt sich nun erreichen, wenn eine Kategorie von häufigsten Infectionsquellen noch ausgeschieden und speciell behandelt wird; es sind das beschmutzte Wäsche, namentlich Taschentücher, Bettwäsche, und grob, d. h. sichtbar mit Exkreten verunreinigte Stellen des Fussbodens, der Wand u. s. w. Bei diesen Infectionsquellen können wir nicht sicher sein, dass sie durch Formaldehydgas zuverlässig desinficirt werden. Aber die Ergänzung, die dadurch erforderlich wird, ist eine sehr einfache: die verdächtige Wäsche wird in einen Behälter mit Sublimat-Kochsalzlösung im Zimmer selbst eingelegt, und zwar ist der betreffende Behälter zweckmässig nebenbei zugleich Transportgefäss für die übrigen Utensilien der Desinfectoren. Dort bleibt die Wäsche während der 7 bezw. $3^1/_2$ Stunden der Formaldehydeinwirkung und ist dann sicher desinficirt. Die sichtbar mit Exkret beschmutzten Stellen des Fussbodens u. s. w. werden ebenfalls reichlich mit Sublimatlösung befeuchtet.

Nachdem diese Infectionsquellen für sich behandelt sind, lässt sich der ganze grosse Rest von im Raume befindlichen Objecten incl. Wänden und Decke mit Formaldehydgas desinficiren, freilich wiederum noch unter einer wichtigen Voraussetzung: dass nämlich alle Flächen dem Gas frei ausgesetzt sind.

Um dieser letzten Voraussetzung zu genügen, ist eine sehr sorgfältige und zum Theil eigenartige Ausbreitung der Utensilien, besonders Betten, Kleider u. s. w. erforderlich. Zunächst werden die Möbel von der Wand abgerückt, Schubladen und Schrankthüren weit geöffnet. Sodann muss die Colonne ein zusammenlegbares eisernes Gestell mit sich führen, das in dem zu desinficirenden Raum aufgestellt wird; ausserdem zur Reserve einige Wäschleinen, die im Zimmer ausgespannt werden. An dem Gestell und den Leinen müssen nun Betten, Teppiche, Kleider u. s. w. so aufgehängt werden, dass alle Stellen der Formaldehydwirkung zugänglich sind. Die Betten z. B. werden an den 4 äussersten Zipfeln mit in Sublimat getauchtem Bindfaden umschnürt und mittels desselben frei am Gestell aufgehängt. Durch die Aermel der Röcke wird ein Stock gesteckt, die Taschen werden nach aussen gekehrt, die Rockkragen aufgeklappt u. s. w. Wir haben für diese Ausbreitung der Sachen allmählich eine ganz bestimmte Technik ausprobirt, die sich praktisch gut bewährt hat; sie wird mit Hülfe einer genauen Instruction (s. unten) und mündlicher Unterweisung von den Desinfectoren rasch gelernt und bald in tadelloser Weise angewendet. — Die Manipulationen, die als Vorbereitung für die Formaldehydgas-Einwirkung erforderlich sind, werden durch diesen neuen Zuwachs nicht etwa zu complicirt und zeitraubend. Die gesammte Vor-



bereitung eines Zimmers, d. h. Abdichtung, Einlegen beschmutzter Wäsche u. s. w. in Sublimatlösung, vorschriftsmässiges Ausbreiten der Objecte und Herrichtung des Formaldehydentwicklers dauert im Mittel nur eine Stunde, bei grossen und vollen Räumen mehr, bei kleinen und leeren weniger.

Man könnte einwenden, dass auch bei den für Formaldehyd-Desinfection geeigneten Krankheiten Fälle vorkommen, wo trotz der Ergänzung mittels Sublimatdesinfection und trotz möglichster Ausbreitung der Objecte manche Erreger nicht getödtet werden, die in grössere Tiefe poröser Stoffe oder in unzugängliche Winkel verschleppt sind. Das heisst aber Curiositäten construiren, auf die wir die praktische Desinfection nicht zuschneiden dürfen, wollen wir sie nicht so compliciren, dass sie für die Durchschnittsfälle ganz unbrauchbar wird. Wir dürfen hier um so weniger alle entfernten Eventualitäten in Rechnung ziehen und damit die Desinfection zu discreditiren versuchen, als wir, wie ich oben schon hervorhob, nie Aussicht haben, aller gefährdenden Keime habhaft zu werden. Was uns regelmässig während der Krankheit und durch den Reconvalescenten von Keimen entgeht, ist so viel, dass demgegenüber einzelne hier und da versteckte Reste im Krankenzimmer nicht in Betracht kommen können.

III. Beseitigung des Formaldehyds aus dem desinficirten Wohnraum.

Praktisch nicht weniger wichtig wie die bisher geschilderten Ergänzungen der Formaldehyddesinfection ist die Beseitigung des reizenden Geruches aus dem Wohnraum und den Gebrauchsgegenständen. Lüftung hilft erwähntermassen sehr wenig. Das einzig wirksame ist Einleiten von Ammoniak, das sich mit Formaldehyd zu festem, geruchlosem Hexamethylentetramin verbindet. Aber auch damit ist früher nur ganz unvollständiger Effect erzielt. Auch wir hatten unbefriedigenden Erfolg, so lange wir so verfuhren, wie es damals allgemein geschah, nämlich dass man erst die Hauptmassen des Formaldehyds durch Lüften entfernte und dann die Reste durch Ammoniakentwickelung zu binden suchte. Das Lüften vor der Desodorisirung hat schon das Fatale, dass dabei leicht grosse Massen Formaldehyd in anstossende Räume, Corridor und Treppenhaus getrieben werden und die Mitbewohner des Hauses belästigen. Ausserdem aber wirkt das längere Lüften offenbar dahin, dass in Folge der Abkühlung die Flächenattraction und in Folge der Zeit das tiefere Eindringen des Aldehyds begünstigt wird; es haftet dann viel zäher und geht noch lange nachher allmählich wieder in die Luft über.

Ganz anderen Erfolg hatten wir, wenn wir das Ammoniak gleich nach beendeter Desinfection in das noch ganz mit Formaldehyd gefüllte Zimmer einleiteten. Das gesammte Formaldehyd wird dann offenbar leicht in Hexamethylentetramin verwandelt, und der Ueberschuss von Ammoniak lässt sich durch Lüften rasch beseitigen.

Das Ammoniak haben wir entweder aus Bomben mit flüssigem Ammoniak entwickelt, deren Ventil sich mittels eines durch das Schlüsselloch geführten Ansatzrohres in's Zimmer öffnete. Aber die Menge lässt sich dann zu schwer abstufen. — Dann haben wir Blechgefässe mit Kalk und Salmiaklösung rasch in's Zimmer gestellt und in einander geschüttet; aber das Einsetzen in die mit Formaldehyd erfüllten Zimmer ist zu belästigend für die Desinfectoren. — Am besten gelingt die Ammoniakentwickelung durch Verdampfen von käuflicher 25 procentiger Ammoniaklösung. Dieselbe wird in einem einfachen Topf aus Eisenblech mit verschraubbarer Eingussöffnung und dünnem Abströmungsrohr erhitzt. Letzteres wird mittels Schlauchs mit einem Rohr verbunden, das vor dem Verschliessen des Zimmers in's Schlüsselloch gesteckt war. Das Rohr trägt an der Innenseite der Thür ein besonders geformtes Auffangegefäss, damit keine mitgerissenen Tropfen den Anstrich des Fussbodens beschädigen.

Selbstverständlich muss auch die Desodorisirung quantitativ erfolgen und der Menge des entwickelten Formaldehyds angepasst werden. Da sich 6 Molecüle Formaldehyd mit 4 Molecüle Ammoniak zu Hexamethylentetramin verbinden und da vorsichtshalber noch ein gewisser Zuschlag zu der theoretisch erforderlichen Menge gegeben werden muss, ist es zweckmässig, für je 100 ^{cbm} Raum, bezw. 250 ^{grm} Formaldehyd oder 660 ^{ccm} Formalin ein Quantum von 800 ^{ccm} 25 procentiger Ammoniaklösung zu verdampfen. — Bei doppelter Concentration des Formaldehyds braucht die Ammoniakmenge nur auf das $1^1/_2$ fache gesteigert zu werden.

Die Verdampfung erfordert in unserem Drucktopfe für 800 ^{ccm} etwa 20 Minuten Zeit; bei grösseren Räumen ist mehr, bei kleineren weniger Zeit erforderlich. Der Desinfector muss während des Verdampfens anwesend bleiben. Nach Beendigung der Verdampfung ist es gut, noch 30 Minuten zu warten, um die Vertheilung des Ammoniaks und die Bindung des Formaldehyds vollständiger werden zu lassen. Darauf werden Fenster und Thüren geöffnet, nach wenigen Minuten kann der Desinfector anfangen, im Zimmer zu hantiren; er rückt die Möbel an Ort und Stelle, nimmt die aufgehängten Sachen ab; die in Sublimatlösung gelegte Wäsche wird mit Wasser einmal durchgespült, die Sublimatlösung weggegossen. Schliesslich werden die Wattestreifen und sonstigen Dichtungen weggenommen — kurz das Zimmer wieder so hergerichtet, dass es bewohnt

werden kann. Die Benutzung desselben kann dann in der That sofort, auch zum Schlafen, erfolgen, ohne dass irgend eine Belästigung eintritt.

Die Zeit, die ein Desinfector auf die Ammoniakentwickelung, Lüften, Ordnen der Sachen verwenden muss, beträgt etwas über 1 Stunde im Durchschnitt.

IV. Kosten der Wohnungsdesinfection mittels Formaldehyd.

An einmaligen Anschaffungskosten kommen in Betracht die Ausrüstungsgegenstände und die Apparate zur Entwickelung von Formaldehyd und Wasserdampf; an laufenden Kosten die für verbrauchtes Formalin oder Formochlorol oder Paraformpastillen, für Spiritus, für Ammoniak und für Material zur Abdichtung der Räume. Dazu kommt der Lohn für die Desinfectoren.

Die Anschaffungskosten werden voraussichlich für die gesammten, in der unten mitgetheilten Instruction verzeichneten Ausrüstungsgegenstände[1] (incl. Dienstkleidung, Gestell u. s. w.) zwischen ca. 100 Mark betragen. — Der Preis der Entwickelungsapparate stellt sich sehr verschieden, je nachdem man sich für diese oder jene Methode der Formaldehydentwickelung entscheidet; der Trillat'sche Apparat kostet etwa 300, der Schlossmann'sche 80 Mark; der Schering'sche „Aesculap" 7 Mark, dazu ein Wasserdampfentwickler für 10 bis 20 Mark; der Breslauer Apparat für verdünntes Formalin wird höchstens 20 Mark kosten.

Die laufenden Kosten sind am erheblichsten bei dem Schlossmann'schen Verfahren; für 100 ^{cbm} sind allein für 10 Mark Glycoformal zu verbrauchen. Für Schering'sche Pastillen sind pro 100 ^{cbm} Raum etwa 5 Mark aufzuwenden. Für den Breslauer Apparat kostet der Formalinverbrauch weniger als 2 Mark. Für Spirituseonsum sind noch 40 Pfennige, für Ammoniak incl. Spiritus 80 Pfennige, für Abdichtungsmaterial (namentlich die Wattestreifen, von denen der Meter etwa $1^1/_2$ Pfennige kostet) sind gleichfalls 80 Pfennige pro 100 ^{cbm} in Ansatz zu bringen; bei Benutzung des Breslauer Verfahrens in Summa also etwa 4 Mark pro 100 ^{cbm} Raum.

Alles in Allem wird die Wohnungsdesinfection durch die Formaldehydbenutzung gegen früher kaum vertheuert. Insbesondere ist die bisher regelmässig bei jeder Desinfection verwendete Dampfdesinfection mindestens

[1] Die Ausrüstungsgegenstände sind in manchen Theilen wohl noch verbesserungsfähig. Einstweilen reichen die von uns sorgfältig ausprobirten Utensilien für die Praxis jedenfalls vollkommen aus. Dieselben sind bereits vorräthig in der Schering'schen Fabrik, Berlin N, Müllerstrasse.



so theuer, als der Aufwand für die Formalindesinfection. — Nur in den seltenen Fällen, wo Dampf- und Formaldehyddesinfection combinirt werden müssen, tritt eine Erhöhung der Kosten ein.

Für kleinere Städte und das Land fällt es ausserdem in's Gewicht, dass der Transport sich so viel einfacher und billiger herstellen lässt. Für die Beförderung der Ausrüstungsgegenstände u. s. w. zur Formaldehyddesinfection genügt ein kleiner Handwagen (ev. Dreirad); während bisher entweder der Dampfofen an die Stätte der Infection gefahren, oder Betten u. s. w. zum Dampfofen geschafft werden mussten. — In grösseren Städten wird eine gewisse Vermehrung des Personals gegen früher hinzukommen. In Breslau z. B. konnten bisher 4 Desinfectoren und 1 Kutscher täglich 4 bis 6 Desinfectionen ausführen; 2 Leute arbeiteten in den Wohnungen, 2 am Dampfofen. Bei der Formaldehyddesinfection können 2 Leute Vormittags höchstens 2 bis 3 Desinfectionen in Gang setzen; Nachmittags und Abends erfolgt durch dieselben Leute die Desodorisirung, das Einräumen der Sachen und der Rücktransport der Ausrüstungsgegenstände. Nur ausnahmsweise wird es möglich sein, Abends noch eine Desinfection anzusetzen und am anderen Morgen zu desodorisiren. Um allen Anforderungen gewachsen zu sein und auch bis 5 Desinfectionen an einem Tage und eventuell combinirte Desinfectionen leisten zu können, sind daher hier statt 4 wenigstens 5 Desinfectoren anzustellen. — Durch theilweise Benutzung der doppelten Concentration Formaldehyd wird so viel Zeit erspart, dass man mit etwas weniger Mannschaft ausreicht. Die vermehrten sachlichen Kosten werden aber immer gegen eine zu grosse Ausdehnung dieses Verfahrens sprechen.

Auf dem Lande und in kleinen Städten hat man wöchentlich im Mittel mit 1 bis 3 Desinfectionen zu rechnen; wenn die neue Formaldehyddesinfection verwendet wird, genügt dafür ein Desinfector, eine Ausrüstung, ein Handwagen. Für Städte mit durchschnittlich täglich einer Desinfection sind 2 Desinfectoren, 2 Ausrüstungen, 1 Handwagen vorzusehen. Treten Häufungen von Desinfectionen in diesen Verhältnissen ein, so kann die Ausführung der Desinfectionen etwas verzögert werden oder es wird ein Hülfsdesinfector einberufen. Bei Städten mit täglich 2 Desinfectionen und mehr muss schon stets eine gewisse Reserve vorhanden sein; für durchschnittlich 2 Desinfectionen also 3 Desinfectoren, 3 Ausrüstungen, 2 Handwagen; für 3 tägliche Desinfectionen 4, für 4 Desinfectionen 5 Desinfectoren, ausserdem Wagen und Kutscher.

Im grossen Ganzen tritt also eine irgend nennenswerthe Kostenerhöhung durch die Einführung des Formaldehyds in die Wohnungsdesinfection nicht ein.

Ich würde es nicht wagen, die Formaldehyddesinfection, wie ich sie hier geschildert habe, für die Praxis der Wohnungsdesinfection zu empfehlen, wenn ich sie nicht zuvor in der Praxis erprobt und bewährt gefunden hätte. Das ist aber geschehen. Durch das Entgegenkommen des Hrn. Regierungspräsidenten, des Hrn. Polizeipräsidenten und der städtischen Desinfectionsanstalt in Breslau haben wir Gelegenheit gehabt, das Formalinverfahren in grossem Maassstabe praktisch durchzuprobiren. Zunächst wurden etwa 50 Desinfectionen mit Formaldehyd durch die städtische Colonne in solchen Fällen ausgeführt, wo die Desinfection nicht obligatorisch war, sondern auf Ansuchen der Angehörigen geschah. Sodann ertheilte das Polizeipräsidium auf meine Bitte die Erlaubniss, dass einen Monat hindurch sämmtliche, auch die obligatorischen Desinfectionen mit Formaldehyd erfolgten. Daraufhin wurden weitere etwa 70 Desinfectionen unter den allerverschiedensten Verhältnissen, theils in kleinsten Wohnungen, theils in ganzen Etagen, ausgeführt. Das Verfahren hat sich dabei in jeder Beziehung ausgezeichnet bewährt. Seitens des Publikums ist nicht nur keine Beschwerde erhoben, sondern es herrschte allgemein Befriedigung darüber, dass keine Sachen aus dem Hause fortgeschafft wurden und dass nicht die geringste Beschädigung der Wohnung stattfand; die Art und Weise der Desinfection imponirte der Bevölkerung und machte einen beruhigenden Eindruck. Die Desinfectoren waren, obgleich sie in der betreffenden Zeit sehr angestrengt zu arbeiten hatten, geradezu begeistert für das neue Verfahren und waren froh, von der bisherigen „Scheuerfrauenarbeit“ loszukommen. Die Technik der Abdichtung, der Vorbereitung des Zimmers und der Gebrauchsgegenstände, der Handhabung der Apparate u. s. w. wurde von den Desinfectoren sehr rasch erlernt; dieselben waren der Meinung, dass Fehler und Versäumnisse bei einiger Sorgfalt gar nicht vorkommen könnten.

Die Hauptsache aber ist, dass wir von der vollen Wirkung der Wohnungsdesinfection mit Formaldehyd überzeugt sein dürfen, eine Ueberzeugung, die uns die bisherige Wohnungsdesinfection nicht gewährt. Es muss als durchaus unwahrscheinlich bezeichnet werden, dass in einer Wohnung, die lege artis — d. h. genau nach den hier gegebenen Vorschriften — mit Formaldehyd desinficirt wurde, eine Infection durch Krankheitserreger zu Stande kommen kann, die im Wohnungsraum und an den dort zurückgelassenen Utensilien Leben und Virulenz erhalten hatten. Damit haben wir aber in der Praxis der Wohnungsdesinfection einen gewaltigen Schritt vorwärts gethan, und haben einstweilen so viel erreicht, wie wir zur Zeit und mit den vorhandenen Mitteln erreichen können.



Instruction für die Formaldehyd-Desinfection.

Bei Anmeldung der Desinfection ist zu erfragen:

1. Ob der Raum in der Nacht entbehrt werden kann,
2. welche Krankheit vorgelegen hat.

Bei Diphtherie, Scharlach, Masern, Tuberculose und Influenza ist die Formalin-Desinfection anwendbar.

Bei Cholera, Unterleibstyphus und Ruhr ist von der Formalin-Desinfection abzusehen und die bisherige Desinfection auf Dampf-Desinfection für Betten, Wäsche, Kleider, auf Abwaschen der näheren Umgebung des Bettes mit Sublimat- oder Carbollösung, Abort-Desinfection mit Kalkmilch zu beschränken.

Bei Kindbettfieber und anderen septischen Erkrankungen (namentlich in Hospitälern, Operationssälen u. s. w.), ferner bei Pocken und Pest ist neben der Formalin-Desinfection die Desinfection der Matratzen und Betten im Dampfapparat erforderlich.

Jede Colonne hat folgende, zur Desinfection von 200 ^{cbm} Rauminhalt ausreichende Utensilien mit sich zu führen:

1. 1 Packet Watte,
2. $^1/_4$ ^{kg} Wattestreifen,
3. $^1/_2$ ^{kg} Fensterkitt (in Blechdose),
4. 1 Glaserkittmesser,
5. Packpapier, Kartoffelstärke (in Blechdose), Scheere und Stecknadeln,
6. 1 Maassstab,
7. 1 eisernes, zusammenklappbares Gestell,
8. 1 Packet Schnur,
9. 2 grosse Blecheimer, inwendig lackirt,
10. 4 Handtücher,
11. 10 ^{grm} Quecksilbersublimat und etwas Kochsalz,
12. 1 Packet Streichhölzer,
13. $2^1/_2$ Liter Brennspiritus,
14. 1 Tasche aus Leinen zum Transportiren des Arbeitsanzuges (1 Blouse aus Leinwand, 1 Hose aus Leinwand, 1 Leinwandmütze mit vorderem und hinterem Schirm, Stiefel von wasserdichter Leinwand),
15. 1 Ammoniakentwickler nebst Spirituslampe und Schlauch,
16. 2 Liter Ammoniak (25 proc.),
17. Maassgefässe zu 1 Liter, $^1/_2$ Liter, $^1/_4$ Liter, $^1/_{10}$ Liter,
18. 1 Blechrinne zum Auffangen verspritzter Ammoniaktropfen,
19. Wäscheleinen.



Ausserdem zur Formalinentwickelung entweder:

a) nach der Schering'schen Methode:

20. 2 Formalinlampen mit Zubehör (Aeskulap-Schering),[1]

21. $^{1}/_{2}\,^{kg}$ Formalinpastillen à 1^{grm},

22. 2 Wasserdampfentwickler nebst Spiritusbrenner und Gestell,[1] oder

b) nach der Breslauer Methode:

20. 2 Verdampfungsapparate nebst Gestell und Spirituslampe,

21. 2 Liter flüssiges Formalin (40 procentig).

Die Desinfection geschieht in folgender Weise:

Pflanzen und lebende Thiere müssen aus dem Zimmer entfernt sein.

Die Desinfectoren legen vor dem Krankenzimmer ihren Arbeitsanzug an, bereiten die desinficirende Lösung (1 Sublimatpastille + 2 Theelöffel voll Kochsalz auf 2 Liter Wasser, im Ganzen 6 bis 20 Liter) und betreten dann das Krankenzimmer.

Sodann werden die Eimer mit Sublimatlösung gefüllt, die Bettbezüge und die grobbeschmutzte Wäsche werden hineingelegt, grobbeschmutzte Stellen des Fussbodens und der am Bett befindlichen Wand werden stark mit Sublimatlösung befeuchtet.

Darauf werden Bettstellen u. s. w. abgerückt, Thüren von Schränken und Schübe geöffnet, Spielsachen, Bücher u. s. w. frei aufgehängt oder aufgestellt.

Sodann wird das Gestell (s. Nr. 7) aufgeschlagen (in geeigneten Fällen statt dessen Wäscheleinen s. Nr. 19), an demselben werden Betten, Decken, kleinere Teppiche und Kleider so aufgehängt, dass sie nirgends aufliegen, oder dass enge Falten gebildet werden. Die Betten sind so aufzuhängen, dass sie an den Zipfeln mit Bindfaden, der in Sublimatlösung eingetaucht und wieder ausgewunden worden ist, festgebunden und freihängend befestigt werden.

Kleider sind ebenfalls freihängend zu befestigen, Röcke und Blousen u. s. w., indem man eine Stange durch beide Aermel steckt, Rockkragen sind aufzuklappen, sämmtliche Taschen werden nach aussen umgewendet, Taschentücher werden in Sublimatlösung gelegt.

Dann werden Fenster und Stubenthüren mit Wattestreifen, die in Sublimatlösung getaucht und angedrückt sind, sorgfältig gedichtet. Sprünge in den Fensterscheiben und Thüren sind mit Kitt zu verschliessen.

Die Schlüssellöcher der Thüren werden bis auf dasjenige der Aussenthür verstopft. Auf Luftheizungs-, Ventilations- und andere Oeffnungen in den Wänden (auch Rohrleitungen, Klingelleitungen u. s. w., welche zu Nebenräumen führen) ist zu achten, nöthigenfalls ist Verklebung mit Papier oder Kitt vorzunehmen.

[1] Zweckmässiger ist der combinirte Apparat (s. S. 287) zu benutzen.

Ofenthüren sind fest zu schliessen und ebenfalls mit Watte zu dichten, grobe Sprünge im Ofen zu verkleben. Es ist überhaupt die grösste Sorgfalt auf die Dichtung des Zimmers zu verwenden, da hiervon der Erfolg der Desinfection wesentlich abhängt.

Durch das Schlüsselloch der Thür wird die Blechrinne (s. Nr. 18) durchgesteckt und mit Draht befestigt. Sodann wird das Zimmer ausgemessen und die Formaldehyd-Entwickelung vorbereitet. Soll

a) die Schering'sche Methode benutzt werden, so sind auf jeden Cubikmeter Rauminhalt $2^1/_2$ Formalin-Pastillen abzuzählen und in einen oder, wenn mehr als 250 Stück Pastillen gebraucht werden, in zwei Apparate zu füllen. Darauf wird der Wasserdampf-Entwickler mit 3 Litern Wasser, das dazu gehörige Spiritusgefäss mit 1 Liter Spiritus gefüllt. Nach dem Anzünden der Brenner wird der Wasserdampf-Entwickler auf den Brenner gestellt. (NB. Ist der zu desinficirende Raum grösser als 100^{cbm}, so ist für weitere 100^{cbm} 1 Wasserdampf-Entwickler mehr aufzustellen.) Schliesslich werden die Brenner der Formalin-Lampen angezündet. Die Dochte dürfen nicht mehr als 1^{mm} über die Blechrohre der Lampe hervorragen, die Spirituslampe ist vollständig zu füllen. Falls nach Beendigung der Desinfection nicht alle Pastillen im Entwickelungsapparat verbrannt sein sollten, so sind die übriggebliebenen Pastillen nachzuzählen und der Vorfall ist der Inspection zu melden.

Wird b) die Breslauer Methode benutzt, so ist nach der dem Apparat beigegebenen Tabelle das flüssige Formalin mit Wasser zu mischen und in den Kessel einzufüllen. Gleichfalls aus der Tabelle ist die Spiritusmenge zu ersehen, welche in die Spirituslampe eingefüllt wird.

Bei beiden Verfahren sind die Entwickelungs-Apparate so aufzustellen, dass sie ein Oeffnen der Thür ermöglichen; ferner muss, um jede Feuersgefahr völlig auszuschliessen, ein freier Raum im Umkreise von mindestens $^1/_2$ Meter um die Apparate gelassen werden. — Ist eine völlig feuersichere Aufstellung der Apparate nicht möglich, so ist der Breslauer Apparat ausserhalb des Zimmers aufzustellen und das entwickelte Formaldehyd ist mit Hülfe einer Schlauchverbindung durch das Rohr der Blechrinne (Nr. 18) in das Zimmer zu leiten.

Vor dem Verlassen des Zimmers legen die Desinfectoren ihre Arbeitskleidung ab, hängen sie auf das Gestell, und waschen sich Gesicht, Bart und Hände mit Sublimatlösung. Es folgt Abdichten der Thür von Aussen mit feuchten Wattestreifen und Kitt, der untere Thürrand kann durch Vorlegen eines feuchten Handtuches verschlossen werden.

Frühestens sieben — bei Verwendung doppelter Formaldehydmengen $3^1/_2$ — Stunden nach dem Anzünden kommt ein Desinfector,



um das Ammoniak zu entwickeln; für 1 ^{cbm} Raum werden 8 ^{ccm} Ammoniak gerechnet, bei doppelter Formaldehydmenge 12 ^{ccm}. Der Ammoniak-Entwickler wird mit dem aus dem Schlüsselloch hervorragenden Theile der Blechrinne durch einen starken Schlauch verbunden.

Im Beisein des Desinfectors wird das Ammoniak verdampft, wozu 100 bis 150 ^{ccm} Spiritus ausreichen. 1 Stunde nach Anzünden des Ammoniak-Entwicklers folgt Oeffnen des Zimmers und der Fenster, Auswaschen der in Sublimatlösung gelegten Wäsche, Weggiessen des Sublimats, Einordnen der Sachen u. s. w.

Anhang.

Bericht über einige der von Dr. Neisser angestellten Versuche über Desinfection mit Formaldehyd nach dem Schering'schen Pastillen-Verfahren.

Es wurden im Ganzen 17 grössere Versuche mit dem Apparat Aeskulap angestellt.

Die ersten 7 Versuche wurden derart ausgeführt, dass Material auf Läppchen angetrocknet oder frisch verstrichen wurde, und dass diese Läppchen dann zu Agar- bezw. Glycerin-Agar-Platten verarbeitet wurden. Es wurde dabei hauptsächlich darauf gesehen, festzustellen, welche Zeit als Grenze der Einwirkungsdauer angesehen werden müsse. Ferner wurde auf eine besondere Vielfältigkeit und auf ein möglichst verschiedenes Auslegen der Proben gesehen (in Rockfalten, Gardinenfalten, unter Aufliegestellen von Bettzeug u. s. w.). Es wurde Abstand davon genommen, die Proben vor dem Plattengiessen noch in Ammoniak zur Entfernung etwaiger Formalin-Reste abzuspülen, da nach der Formalin-Einwirkung stets Ammoniak-Entwickelung im Zimmer stattfand. Ausserdem zeigten Proben, welche in Folge zu versteckter Lage oder besonderer Resistenz der betreffenden Bakterienarten nicht genügend desinficirt waren, ein kräftiges Wachsthum auf den Platten, so dass also die störende Anwesenheit von Formalin-Resten ausgeschlossen werden konnte.

Die Resultate dieser Versuchsreihe waren im Ganzen günstige, denn nur an nicht genügend oberflächlich gelegenen Stellen blieb die Desinfectionswirkung aus.

Einer dieser Versuche war folgender:

Proben: Dünner Stuhl, sterilisirt, versetzt mit Bacillus typhi abdominalis, in ziemlich dünner Schicht ausgebreitet.

2 Läppchen (stets Läppchen aus grobem Leinenzeug von etwa 1 ^{qcm} Fläche) mit Staphylococcus pyog. aureus (Agarcultur-Wasseraufschwemmung, angetrocknet). Diese beiden Läppchen wurden noch mit einem Eiter, welcher Streptokokken enthielt, bedeckt.

Ausserdem 6 Läppchen mit Diphtherie ausgelegt (Serumcultur-Wasseraufschwemmung, angetrocknet) und an den verschiedensten Stellen angebracht. Ferner wurden noch Staphylokokken-Läppchen (wie oben) ebenfalls an verschiedenen Punkten befestigt.

Schliesslich wurden noch 2 tuberculöse Sputa in verschiedener Weise verwendet. Allein die geimpften Thiere gingen schon nach 2 Tagen ein. Diese Resultate sind daher nicht verwerthbar.

Die Controllen sämmtlicher Proben fielen positiv aus.

Die desinficirten Proben blieben alle steril, bis auf 3 Staphylokokken-Proben, welche an wenig oberflächlich gelegenen Stellen angebracht waren.

Dauer der Einwirkung $7^1/_2$ Stunden.

In einer ferneren Versuchsreihe wurde insofern eine Aenderung getroffen, als die Proben nach der Desinfection nicht zu Platten verarbeitet wurden, sondern, um den Bakterien die günstigsten Bedingungen zu geben, in Bouillon verpflanzt wurden.

Zur Entfernung etwaiger Formalin- oder Ammoniakreste wurden die Proben vor der Uebertragung in Bouillon noch in einem anderen sterilen Bouillonröhrchen ausgewaschen. Beide Bouillonröhrchen kamen in den Brütschrank und wurden in der Regel bis zum 4. Tage beobachtet. Bei etwa eingetretener Trübung der Bouillon wurde durch Präparat und Cultur der Grund der Trübung festgestellt. Es wurden ferner bei dieser Reihe in der Regel Temperatur- und Feuchtigkeitsbestimmungen in dem zu desinficirenden Raume vorgenommen.

In den Proben wurde in diesen und allen folgenden Versuchen von dem früheren Modus insofern abgewichen, als in jedem Versuch dieselben Proben dicht unter der Decke, in Tischhöhe und auf dem Fussboden ausgelegt wurden. Die Proben bestanden zunächst in Leinwandläppchen, welche in einer wässerigen Aufschwemmung einer Staphylokokken-Agarcultur und einer Diphtherie-Serumcultur getränkt waren. Ausserdem wurden Läppchen in einer Staphylokokken-Bouilloncultur und in einer Diphtherie-Bouilloncultur getränkt. Sämmtliche Proben wurden mindestens 24 Stunden im Exsiccator getrocknet. Späterhin wurde in der Wahl der Bakterienarten und überhaupt des Materiales, ferner im Alter und Stamm der Culturen u. s. w. reichlich variirt.

Bei dieser Art der Untersuchung (in Bouillon) zeigte sich schon bei den ersten Versuchen, dass einzelne Testobjecte nicht völlig desinficirt waren. Eine Gesetzmässigkeit liess sich aber zunächst nicht erkennen. Nur so viel stand fest, dass, wenn ungenügende Desinfectionswirkung eingetreten war, diese sich etwas häufiger an den tiefer angebrachten Objecten, als an den höheren documentirte. Dagegen war ein constanter Unterschied zwischen den in Bouillon und den auf festen Substraten gezüchteten Bakterien nicht erkennbar. Der benutzte Staphylococcus pyogenes aureus ferner, der sich schon früher durch eine enorme Resistenz gegen Sublimat, durch starke Thier- (und auch Menschen-) Pathogenität ausgezeichnet hatte, war erheblich resistenter als der Diphtheriebacillus.



Ein Beispiel dieser Versuchsreihe ist folgendes:

Zimmerinhalt . . . . . 95 cbm.
Temperatur vor Beginn . . 20,2° C.
Relative Feuchtigkeit . . 59 Procent.

Proben:

Staphylococcus pyogenes aureus aus Bouillon,
" " " " Agarcultur,
Diphtherie-Bacillus aus Bouillon,
" " Serumcultur.

Je eine Probe unter der Decke und auf dem Fussboden ausgelegt. Von diesen 8 Proben blieben 5 steril.

Aber nicht völlig desinficirt waren:

Staphylococcus pyogenes aureus aus Bouillon, unten,
" " " " " oben,
Diphtherie-Bacillus aus Bouillon, oben.

Allmählich zeigte sich, dass mit steigendem Feuchtigkeitsgehalt der Luft die Desinfectionswirkung sich verbesserte, und aus diesem Grunde wurde in den letzten Versuchen neben der Formalin-Entwickelung eine Sättigung des Raumes mit Wasserdampf herbeizuführen gesucht.

In einer besonderen Versuchsreihe zeigte sich, dass die Sättigung eines abgedichteten Zimmers von 100 cbm mit Wasserdampf der Rechnung entsprechend mit ungefähr 3 Liter verdampften Wassers auch bei hoher Zimmertemperatur zu erreichen ist; das Hygrometer pflegt in einem solchen Raum zwischen 85 und 90 Procent Feuchtigkeit anzugeben. Dieser Feuchtigkeitsgrad bezw. die unter diesen Umständen stets reichlich erfolgende Condensation an den Flächen genügt aber zur Erreichung einer sicheren Desinfectionswirkung.

Nur der schon erwähnte resistente Staphylococcus pyogenes aureus war auch auf diese Weise nicht jedes Mal in allen Proben abzutödten. Jedoch wurde darauf um so weniger Gewicht gelegt, als die Proben in den Versuchen absichtlich zum Theil an schwierigeren Stellen ausgelegt wurden, als in der Praxis in Rechnung zu ziehen sind. Ausserdem zeigten 5 andere Stämme von Staphylococcus pyogenes aureus durchaus nicht die gleiche, selbst die gewöhnlichen Milzbrandsporen übertreffende Resistenz. Die Zahl und Auswahl der Testobjecte war in den letzten Versuchen ebenso gleichmässig, wie das Resultat; es genügt daher, ein Beispiel anzuführen.

Zimmerinhalt: 70 cbm.
140 Pastillen + $2^1/_4$ Liter verdampften Wassers.
Einwirkungsdauer: 7 Stunden vom Anzünden an.

Proben: je 1 unter der Decke (oben),
je 1 in Tischhöhe (Mitte),
je 1 auf Fussboden (unten).

a. Leinwandläppchen, getränkt mit

Diphtherie-Bacillus aus Bouillon,
" " Serumcultur,



Staphylococcus pyogenes aureus aus Bouillon,
" " " " Agarcultur,
Streptokokken aus Bouillon,
Eiter, Streptokokken enthaltend.

Ausserdem 5 Läppchen mit 5 verschiedenen Stämmen von Staphylococcus pyogenes aureus (Agarcultur), nur in Tischhöhe ausgelegt.

b. Deckgläser, beschickt mit Diphtherie-Bacillus, Serumcultur, einem anderen Eiter, ebenfalls Streptokokken enthaltend.

c. Fäden mit Milzbrandbacillus-Sporen (mittlerer Resistenz).

d. Sonden mit Wattebäuschchen, welche in der Diphtherie-Station des Instituts für Untersuchung eingeliefert waren, und in denen reichlich Diphtherie-Bacillen nachgewiesen waren.

Die Controlen sämmtlicher Proben waren nach 36 Stunden reichlichst gewachsen.

Das Resultat des Versuches war, dass sämmtliche Proben abgetödtet waren, bis auf den erwähnten resistenten Staphylococcus pyogenes aureus, von welchem 2 Läppchen, mit Material aus Agarcultur beschickt, nicht völlig desinficirt waren.

Von 35 Proben waren nur diese beiden nicht steril.

Weiter seien noch 2 Versuche mit Tuberkelbacillen mitgetheilt. Zur Verwendung kamen 2 Sputa, das eine reichlich, das andere abnorm reichlich Tuberkelbacillen enthaltend. Das Sputum wurde an Läppchen angetrocknet und diese Läppchen zum Theil ganz frisch, zum Theil in älterem, getrocknetem Zustande verwendet. Wieder wurden die Läppchen in verschiedener Zimmerhöhe angebracht.

Nach der Desinfection wurden die Läppchen Meerschweinchen in eine Hauttasche der Rückenhaut eingenäht.

Die Thiere wurden nach 7 bis 8 Wochen getödtet.

Von 4 Controlthieren wurden bei der Section 3 tuberculös gefunden, das 4. Controlthier bot keine tuberculösen Veränderungen dar; vermuthlich war nach der Impfung das eingebrachte Läppchen zu zeitig herausgeglitten.

Von den 8 eigentlichen Versuchsthieren zeigte keines irgend welche tuberculösen Veränderungen, weder an der Impfstelle, noch an den Schenkeldrüsen oder in den inneren Organen.



Ueber Schutzimpfungen und Heilserum bei Rinderpest.[1]

Von

Dr. **W. Kolle,** und Dr. **George Turner,**

Bacteriologe bei der Capregierung.

Medical Officer of Health for the Colony of the Cape of Good Hope.

Die Art und Weise, wie wir den Stoff des vorliegenden Berichtes am besten anordnen sollten, ist der Gegenstand reiflicher Ueberlegungen gewesen. Wir fühlten einerseits, dass durch Veröffentlichung aller Einzelbeobachtungen und der Einzelheiten der Experimente zusammen mit den für weitere Kreise wichtigen Schlussfolgerungen viele sich vom Studium des Veröffentlichten abschrecken lassen würden oder Mühe hätten, das praktisch und allgemein Wichtige und Wissenswerthe von dem wissenschaftlichen Beweismaterial zu trennen. Ein Hauptzweck, möglichst weite Kreise, namentlich Viehbesitzer und auch Thierärzte, mit dem Vortheil der Präventivimpfungen und Heilmethode mit Serum und allgemein mit dem Wesen der Rinderpestbekämpfung vertraut zu machen, wäre damit nicht erreicht worden. Andererseits würde die Veröffentlichung des Resumés unserer Versuche allein vielleicht bei vielen Lesern Zweifel erregen, ob wir im Besitze von Thatsachen seien, die uns zu unseren Behauptungen berechtigten.

[1] Im engsten Anschluss an den gleichbetitelten Bericht, welcher auf Befehl Sr. Excellenz des Gouverneurs der Capcolonie beiden Häusern des Parlamentes der Colonie am 20. Juni 1898 unterbreitet wurde. Einzelne Capitel der vorliegenden Arbeit sind wörtlich aus dem englischen Original übersetzt, einige dagegen gekürzt, wobei indessen nichts Wesentliches weggelassen ist. Mehrere Thatsachen, welche in früheren Berichten von Dr. Turner und mir enthalten waren, sind hier zum besseren Verständniss hinzugefügt, obwohl sie in dem gleichbetitelten Parlamentsbericht nicht enthalten sind. W. Kolle.



Wir haben deshalb beschlossen, zuerst in gedrängter Form das Resumé mitzutheilen, wobei wir den Leser bezüglich der Thatsachen, auf denen unsere Behauptungen und Vorschläge begründet sind, auf die Anlagen verweisen, in denen alle Einzelheiten zu finden sind.

I. Impfungen mit Blut und Serum gleichzeitig.[1]

(„Simultaneous method.“)

Die Methode der gleichzeitigen Injection von 1 ccm virulenten Blutes auf der einen Körperseite und einer Dosis Serum auf der anderen Seite, wobei die Dosis je nach der Wirksamkeit des Serums zwischen 15 und 40 ccm schwankt, war von uns in einem Berichte vom September 1897 beschrieben und ist seitdem in ausgedehntem Maasse der Probe unterworfen. Sie hat sich dabei erfolgreicher und praktisch brauchbarer erwiesen, als wir voraussehen konnten.

Wenn wir alle Simultaninjectionen, über die wir genaue statistisch verwerthbare Angaben erhalten haben, zusammenstellen,[2] ohne Auswahl, 9007 insgesammt, dann haben wir 178 Todesfälle zu verzeichnen, was einem Verluste von 1·4 Procent entspricht.

Die Gesammtmenge Serum, die von der Station versandt wurde, ca. 2500 Liter, wurde gewonnen durch 1600 Aderlässe.

Ueber die Verwendungsweise eines grossen Theils dieses Serums und die Ergebnisse der damit ausgeführten Impfungen, die ca. 100000 betragen dürften, sind wir leider völlig im Dunklen.

II. Einwände gegen die Simultanmethode.

Der zuerst gegen die Methode erhobene Einwand war aus rein theoretischen Betrachtungen gemacht. Es wurde behauptet, dass es unmöglich sei, Thieren mittelst dieser Methode die Krankheit wirklich mitzutheilen, sie zu inficiren, da das mikrobicide Serum unfehlbar den im Rinderpestblute enthaltenen Infectionsstoff zerstören würde. Die positiven Resultate in Kimberley seien dadurch zu erklären, dass die Versuchsthiere sich auf der ja in hohem Grade verseuchten Versuchsstation spontan inficirt hätten, nicht durch die Injection mit virulentem Blute.

[1] Bezüglich Orientirung über die Galleimpfungen, die Symptome der Rinderpest u. s. w. verweisen wir, soweit das Gewünschte nicht in den späteren Capiteln dieser Arbeit enthalten ist, auf die verschiedenen Veröffentlichungen über Rinderpest in der *Deutschen med. Wochenschrift*, 1897 und 1898.

[2] Jeder, der süd-afrikanische Verhältnisse kennt, wird die Schwierigkeiten zu schätzen wissen, die wir zu überwinden hatten, um die Zahlen für diese ja an und für sich kleine Statistik zu erhalten.



Dieser Einwurf ist jetzt voll und ganz widerlegt durch Ausführung eines Experimenti crucis in Herden, die, soweit menschliche Einsicht das feststellen kann, nicht inficirt sein konnten, auf der Insel „Robben Island“.

Die Zahl derjenigen Rinder, welche bei der Simultanmethode keine augenfälligen Krankheitserscheinungen zeigen, beträgt nicht mehr als 10 Procent der Impflinge.

Der nächste von derselben Seite erhobene Einwand, der mit dem ersten in völligem Widerspruch steht, ist gleichfalls hinfällig, seit nur geprüftes Serum zur Verwendung gelangt. Es war nämlich behauptet worden, dass die Verluste bei Benutzung unserer Methode zu grosse seien. Als viel ungeprüftes Serum benutzt wurde, mag das zuweilen der Fall gewesen sein, seit ausschliesslicher Benutzung geaichten Serums sind die Verluste indessen unter 1 Procent geblieben.

III. Dauer der Immunität bei Thieren, die scheinbar erfolglos nach der Simultanmethode injicirt sind.

Es hat sich gegen die Erwartung gezeigt, dass selbst ganz geringe Temperatursteigerungen, welche nur durch tägliche Messungen Morgens und Abends entdeckt werden können, ohne die geringsten äusserlich sichtbaren Krankheitserscheinungen, genügen, Immunität auf Monate zu verleihen. Ja selbst wenn jede Temperatursteigerung im Laufe der nächsten Wochen nach der Simultaninjection fehlt, ist ein Immunitätsgrad bei solchen Thieren erzeugt, welcher dem durch die Galleimpfungen verliehenen gleichkommt.

IV. Die Werthigkeit des Serums.

Das Serum von Thieren, die in ganz gleicher Weise zur Serumgewinnung vorbereitet sind, ist nicht gleichwerthig. Manche Thiere geben, ohne dass wir in der Lage wären, die Gründe dafür zu erkennen, ein sehr hochwerthiges, andere ein schwaches Serum.

Bei hochimmunisirten Thieren, d. h. solchen, welche die Injection von 2000 bis 3000 ^{ccm} virulenten Blutes überstanden haben, ist der Titre des Serums, auf die Simultanmethode bezogen, 10, 20 oder 30 ^{ccm}, während vom Serum der nicht hochgetriebenen Rinder, einige Wochen nach Ueberstehen der Pest, 100 bis 200 ^{ccm} und mehr nöthig sind, um den gleichen Zweck zu erreichen. Zur Hochtrübung der Immunität wird das von Ehrlich in die Wissenschaft eingeführte Princip der steigenden Dosen angewendet.

V. Die Prüfung des Serums.

Um das Serum zu prüfen, verfahren wir so, dass wir das Serum von mindestens 50 bis 70 Thieren, die an einem Tage zusammen zur Ader



gelassen werden, mischen. Hierdurch wird der Werth des Serums von verschiedenen Gewinnungstagen schon wesentlich gleich erhalten. Er schwankt indessen immerhin noch zwischen 15 bis 25 ccm, auf ein Thier von mittlerem Gewichte (ca. 300 kg), bezogen auf die Simultanmethode. Die Art und Weise der Prüfung ist unten ausführlich beschrieben.

Der Werth des Serums findet sich auf jeder Flasche vermerkt. Es liegt jeder Flasche ausserdem eine genaue Gebrauchsanweisung bei.

Centralisirung der Serumproduction verringert die Gewinnungskosten ganz bedeutend.

VI. Die Grösse der Thiere.

Bei Anwendung der Simultanmethode muss das Gewicht der Thiere in Rechnung gezogen werden.

Anweisungen zur genauen Gewichtsbestimmung liegen bei.

Für die Praxis im Felde wird es indessen genügen, die sämmtlichen Thiere einer Herde in 4 Klassen zu theilen, nämlich 1. Kälber, 2. Durchschnittsthiere (ungefähr 300 kg Gewicht), 3. grosse Thiere (ca. 400 bis 600 kg) und 4. sehr grosse Thiere (ca. 600 bis 800 kg). Die meisten Thiere (ca. 80 bis 90 Procent) werden der Kategorie 2 und 3 angehören. Die Thiere erhalten Dosen, wie sie in den beiliegenden Vorschriften für die betreffenden Kategorieen angegeben sind.

VII. Virulenzunterschiede des inficirenden Materiales (virulenten Blutes).

Wenngleich es theoretisch zugegeben werden muss, dass Unterschiede in der Virulenz des infectiösen Rinderpestblutes bestehen, so hat sich doch gezeigt, dass dieselben für die praktische Ausführung der Simultanmethode keine Bedeutung haben. Die mit „einem Stamme virulenten Blutes“ ermittelte Dosis Serum wird bei Benutzung anderen Blutes, als des Prüfungsblutes, nicht geändert.

VIII. Die Benutzung von Schafblut.

Es ist häufig unmöglich, Blut auf weitere Entfernungen zu versenden. Trotz aller Vorsichtsmassregeln verliert es häufig seine Virulenz, wohl meist, weil Bakterien darin zu wuchern beginnen. In der heissen Jahreszeit ist das besonders der Fall. Es empfiehlt sich deshalb, Schafe mit 100 bis 200 ccm virulenten Blutes, von kranken Rindern entnommen, zu injiciren und die Thiere dann nach dem Orte, wo das Blut gebraucht wird, zu senden. Auf diese Weise kann man das infectiöse Material auf Entfernungen von 8 bis 10 Tagestrecken versenden, indem man das Schaf



gleichsam als Reservoir des Infectionsstoffes auffasst. Die Gefahr, auf diese Weise Rinderpest zu verbreiten, ist, wie unten gezeigt werden wird, dabei minimal.

IX. Immunisirung von Milchkühen und trächtigen Rindern.

Grosse Dosen Serum, 100 bis 200 ccm, verleihen den damit injicirten Thieren eine Immunität für einige Monate. Wir sind nicht in der Lage, mitzutheilen, welches die genaue Grenze ist, denn wir haben jetzt, 4 Monate nach der Injection, das Verschwinden der passiven Immunität bei mehreren so immunisirten Thieren nicht feststellen können.

Dies ist eine in der Immunitätslehre einzig dastehende Thatsache, die eine grosse Bedeutung für die Praxis besitzt. Denn da das Serum natürlich die Rinderpest auf das damit zu injicirende Thier nicht übertragen kann, auch keine Krankheitserscheinungen irgend welcher Art bedingt, so ist gar keine Gefahr mit der Injection verbunden.

Milchkuhbesitzer können daher ihre Kühe mit Serum injiciren, ohne die Menge oder Güte der Milch irgendwie beeinflusst zu sehen.

Galleimpfungen, von Zeit zu Zeit nach Koch's ursprünglicher Vorschrift, ohne nachfolgende Blutinjection, ausgeführt, können, wenn Rinderpestgalle erhältlich ist, für denselben Zweck benutzt werden.

Selbst bei Anwendung der Simultanmethode bleibt die Milch nicht regelmässig weg.

Trächtige Thiere sollten allein mit Serum injicirt werden.

X. Behandlung inficirter und kranker Thiere.

Wenn ein Thier als inficirt angesehen werden muss, oder gar Krankheitssymptome bei ihm sichtbar sind, dann sind bei Weitem grössere Serumdosen, als sie für die Simultanmethode nothwendig sind, angezeigt (50 bis 100 ccm). Je weiter die Krankheit vorgeschritten ist, eine um so grössere Serumdosis ist anzuwenden.

XI. Haltbarkeit des Serums.

Rinderpestserum, gewonnen auf der Kimberley-Station, ist mindestens 9 Monate nach der Gewinnung brauchbar. Versuche haben ergeben, dass es während einer solchen Zeitdauer keine nennenswerthe Abschwächung erfährt. Selbst Serum, bei gewöhnlicher Zimmertemperatur, die während 2 Monaten unter Tag bis auf 47° C. stieg, aufbewahrt, hatte seinen ursprünglichen Titre nicht verloren.



XII. Andere Methoden.

Immunität kann auch erzielt werden, wenn das Serum 1 oder 2 Tage später als das virulente Blut den Rindern injicirt wird. Die Procentzahl der Thiere, welche danach wie beabsichtigt reagiren, ist indessen auch bei dieser Methode ungefähr 90 Procent, wie bei der Simultanmethode. 10 Procent erkranken nicht.

Aber dieser Process der Immunisirung ist keineswegs empfehlenswerth. Denn es ist jedenfalls nothwendig, zur Ausführung derselben die Thiere mindestens zweimal zu fesseln. Die Serumdosis muss bedeutend grösser sein, als bei der Simultanmethode. Die Methode ist also theurer und bedingt Verschleudern des kostbaren Serums.

Immunität kann ferner erzielt werden, wenn das Serum zuerst injicirt wird und dann virulentes Blut in wechselnden Zeiträumen (1, 2, 3, 4, 5 oder 6 Tage) später.

Doch ist diese zuerst von uns gebrauchte Methode nicht ganz frei von verschiedenen berechtigten Einwänden. Der wichtigste derselben ist, dass es so ungemein schwierig, wenn überhaupt möglich ist, für die einzelne Serum- und Blutprobe die Dosen einander anzupassen und die richtigen Zeiträume zu bestimmen, die zwischen der Serum- und Blutinjection verstreichen müssen. Eine kurze kritische Besprechung der Gallenmethode nach R. Koch, sowie der Methoden von Bordet, Danysz und Edington findet sich am Schluss der Arbeit.

Anlage Nr. 1.

Die Heilkraft des Rinderpestserums.

1. Es war unbedingt erforderlich, über ein Mittel zu verfügen, um rinderpestkranke Thiere zu heilen und dem Fortschreiten der Pest in inficirten Herden Einhalt zu gebieten. Galle leistet das nicht. Thiere mit Symptomen der beginnenden Pest können durch die Injection mit Galle nicht geheilt werden, ja Thiere, welche 6 Tage nach der Gallenimpfung inficirt werden, kommen nicht immer mit dem Leben davon. Man musste also nach etwas, was sofort nach der Injection immunisirend oder heilend wirkt, suchen.

2. Dem angegebenen Zwecke hat das Serum entsprochen, völlig in Bezug auf die Möglichkeit, in inficirten Herden der Pest Einhalt zu thun, sehr erfolgreich für die Aussicht, kranke Thiere zu heilen, wenn es frühzeitig genug nach Beginn der Krankheit angewandt wird. Es liegen hier also die Verhältnisse ähnlich, wie bei dem Behring'schen Diphtherie-



Tabelle I.

Inficirte Herden, behandelt mit Serum. Alle in unserem Besitze befindlichen Zahlen sind ohne Auswahl hier veröffentlicht.

Datum	Name des Ortes	Zahl der injicirten Thiere	Zahl der vor Inject. kranken Thiere	Zahl der gestorben. Thiere	Zahl der genesenen Thiere	Procentsatz der Genesungen
20. Juli	Boshof	92	17	0	92	100·0
29. „	Alice	24	24	1	23	95·8
19. Aug.	Kimberley	76	60	7	69	90·8
19. „	„	188	—	25	163	86·8
23. „	Cathcart	110	39	25	85	77·7
23. „	Graaff-Reinet . . .	24	24	1	23	95·8
25. „	Kimberley	376	—	16	360	95·7
25. „	„	306	—	46	260	84·9
25. „	„	39	39	0	39	100·0
25. „	„	64	64	7	57	89·0
28. „	Beaufort West . .	30	—	2	28	93·3
30. „	Richmond	31	5	2	29	93·5
31. „	Graaff-Reinet . . .	15	12	3	12	80·0
2. Septbr.	Aberdeen	150	150	35	115	76·6
3. „	Cathcart	190	42	1	189	99·4
9. „	Britstown	37	37	6	31	83·8
9. „	„	206	—	0	206	100·0
9. „	Middelburg . . .	40	21	13	27	67·5
18. „	„	171	38	25	146	86·3
18. „	Colesberg	57	57	28	29	50·8
19. „	Graaff-Reinet . . .	66	33	1	65	98·5
20. „	Middelburg . . .	5	5	2	3	60·0
21. „	Herbert	26	26	20	20	76·9
25. „	Graaff-Reinet . . .	18	—	1	17	94·4
5. Octbr.	Kenhardt	350	170	50	300	85·7
10. „	Graaff-Reinet . . .	15	15	0	15	100·0
12. „	Piquetberg Road .	123	123	110	13	10·5
12. „	Uniondale	79	42	30	49	62·0
12. „	„	243	7	0	243	100·0
13. „	Stutterheim . . .	22	14	8	14	63·6
18. „	Griquatown . . .	9	9	2	7	77·7
18. „	Uniondale	128	2	0	128	100·0
20. „	Graaff-Reinet . . .	2	2	2	0	0·0
		3318	1077	455	2857	86·1



heilmittel, dessen segensreiche Heilwirkungen zu Beginn der Krankheit weit sicherer zu erwarten sind, als in späteren Stadien des Leidens.

3. Wir haben unser Möglichstes gethan, um über die mit unserem Serum behandelten kranken Thiere genaue Auskunft zu erhalten. Aber leider machten sich nur wenige Leute die Mühe, die Listen, welche sie mit dem Serum erhalten, auszufüllen, nachdem sie über Resultate verfügten. Und es würde die Farmer nur wenige Minuten kosten, das zu thun.

In Tabelle I theilen wir die Thatsachen mit, soweit sie in unserem Besitze sind, ohne irgend welche Einschränkung. In allen Fällen, mit 1 oder 2 Ausnahmen, wurde die Injection von den Viehbesitzern selbst oder von Leuten ausgeführt, die mit uns in keiner Verbindung standen. Wir lieferten ihnen nur das Serum und erhielten von ihnen die Resultate nachher. Von 3318 Thieren starben 455, gleich 13·9 Procent. Das genügt, um unwiderleglich zu beweisen, dass die Injection des Serums der Pest Einhalt gebietet, denn alle Herden waren stark inficirt. Es kann keinem Zweifel unterliegen, dass in diesen Herden, wenn Serum nicht injicirt wäre, die Mortalität mindestens 80 Procent betragen haben würde, während hier gerade das Umgekehrte zu verzeichnen ist. Es muss ausdrücklich hervorgehoben werden, dass wir nicht behaupten, dass die 2857 überlebenden Thiere „gesalzene Thiere“ sind (d. h. solche, welche die Krankheit überstanden haben). Das ist keineswegs der Fall. Nur von den 622, welche vor der Seruminjection krank waren, und dann genasen, können wir das behaupten. Die thatsächliche Zahl gesalzener Thiere muss indessen grösser sein. Denn die Zahlen, welche die Gesammtbestände der Herden und die Todeszahlen angeben, sind genau, diejenigen dagegen, welche die Zahl der kranken Thiere umfassen, aber zu klein.

5. Um einen Beweis dafür anzuführen, wollen wir darauf hinweisen, dass in verschiedenen Herden die Zahl der vor der Impfung kranken Rinder nicht angegeben ist, obwohl die Zahl der Todesfälle an Pest später gross war, z. B. 25 und 46. Daraus müssen wir schliessen, dass die betreffenden Herden schwer inficirt waren, dass mindestens 25 bez. 46 Thiere krank waren, denn das Serum kann doch nicht Rinderpest erzeugen. Wir betonen das letztere, weil wir häufig von Farmern Berichte erhalten haben, ihre Herden seien erst durch die Seruminjectionen inficirt worden. Eine solche Annahme entbehrt jeder Begründung, sie hat nicht mehr Daseinsberechtigung wie diejenige, dass Galle Rinderpest verbreiten kann.

Wir haben daher zu den 1077 Rindern, die als inficirt verzeichnet sind, die Zahl der gestorbenen Thiere hinzuzufügen aus den Herden, für welche Angaben über inficirte Thiere fehlen. Dann haben wir eine ungefähr richtige Vorstellung von der Zahl der zur Zeit der Injection inficirten



Thiere, einer Zahl, die, wie ersichtlich, unterschätzt war. Die verbesserten Zahlen betragen dann 1193 mit 455 Todesfällen, gleich 38 Procent Verlust inficirter und kranker Thiere.

6. Es muss auffallen, wie grosse Unterschiede in Bezug auf den Procentsatz der Genesung kranker Thiere in verschiedenen Herden zu Tage traten. Es kann kaum einem Zweifel unterliegen, dass der Erfolg steigt und fällt, je nachdem die Behandlung früh oder spät begonnen wird nach Anfang der Krankheit. So liegen die Sachen bei dem unglücklichen Experiment in Piquetberg Road, wo nachgewiesen werden konnte, dass der Erfolg weniger von der Menge des injicirten Serums als von dem Zeitpunkt des Krankheitsverlaufes abhing, in dem die Behandlung mit Serum erfolgte.

Heilung rinderpestkranker Thiere durch Serum ist daher nur zu erwarten, wenn die Behandlung früh einsetzt. Seit wir Serum stets auf Lager haben, giebt es für die Thierärzte keine Entschuldigung mehr, wenn sie das Serum nicht sofort auch anwenden.

Unsere Versuche auf der Station ergeben einen Heilungsprocentsatz von 59 Procent, nach natürlicher Infection. Sie zeigen zu gleicher Zeit, dass nur dann günstige Ergebnisse erzielt werden, und die Heilung mit einiger Sicherheit erwartet werden kann, wenn das Serum innerhalb der ersten drei Tage nach Beginn des Fiebers den kranken Thieren injicirt wird.

Die Dosen des Serums schwankten zwischen 20 bis 50 ccm. Nach unseren Erfahrungen empfiehlt es sich, die Dosis auf 40 bis 80 ccm zu bemessen. Wie uns weitere Versuche gezeigt haben, nützt eine weitere Steigernng der Dosis nichts.

Es empfiehlt sich, eine grosse Dose auf einmal zu geben, und nicht das Serum anf mehrere Injectionen und Tage zu vertheilen.

Anlage Nr. 2.

Simultaninjectionen.

1. Seit den letzten 9 Monaten haben wir die Immunisirung gegen Rinderpest mit der Simultanmethode empfohlen, d. h. Injectionen von 0,5 bis 1 ccm vollvirulenten Rinderpestblutes unter die Haut der einen Körperseite des Thieres und subcutane Einverleibung einer Dosis Immunserums auf der anderen Körperhälfte. Es mag hier vielleicht der Ort sein, darauf hinzuweisen, dass wir auf die Stelle der Injection oder die Grösse der Entfernung, in welcher beide Fluida eingespritzt werden,



keinen grossen Werth legen. Es genügt, wenn die Einspritzung so geschieht, dass sich Serum und Blut nicht im Unterhautgewebe direct mischen. Die Körperstelle ist unwesentlich.

Tabelle II.

Name der Farm oder Station, auf der die Injection ausgeführt wurde, oder Name des Farmers	Zahl der injicirten Thiere	Zahl der an Rinderpest gestorbenen	Procent	Zahl der genesenen Thiere	Procent	Dosen des Serums und Bemerkungen
I. Rhodesia.						
Bulawayo Station .	1909	0	0	1900	100·0	15—25 ccm
Gwelo Station . . .	122	0	0	122	100·0	
Ramaquabaan Station	1110	25	2·2	1085	97·8	
II. Kapcolonie.						
Upington District:						
Mr. Turner . . .	272	2	0·8	270	99·2	30—40 ccm
Mr. Moller . . .	2200	15	0·7	2185	99·3	
Mr. Harris . . .	1100	5	0·5	1095	99·5	
Mr. Steyn . . .	1500	4	0·3	1496	99·7	
Beaconsfield . . .	22	0	0	22	100·0	20 ccm
Griqualand West .	37	0	0	37	100·0	
Kimberley . . .	27	1	3·7	26	96·3	
Jacobsdal . . .	52	2	3·8	50	96·2	
Belmont	7	1	14·3	6	85·7	
Zwartkop	80	3	3·7	77	96·3	
Groot Druck . .	80	0	0	80	100·0	
Uniondale . . .	84	0	0	84	100·0	
„ . . .	89	0	0	89	100·0	
Mr. Oakley . . .	4	0	0	4	100·0	
	61	0	0	0	100·0	
	8756	58	0·6	8698	99·3	
III. Experimente.						
Tokai	68	0	0·0	68	100·0	Vide Anlage Nr. 8
Robben Island . .	53	1	1·9	52	98·1	„ Nr. 7
Experimentalstation .	191	69	36·1	122	63·9	5—40 ccm
	9007	128	1·42	8879	98·6	

2. In Tabelle II geben wir eine Zusammenstellung von Simultaninjectionen mit den Resultaten. Sämmtliche Injectionen, mit Ausnahme der unter Nr. 3 (Tokai, Robben Island, Experimentalstation) aufgeführten, sind von Personen ausgeführt worden, die in gar keiner Beziehung zur Kimberley Station standen. Viele Injectionen sind von den Viehbesitzern

selbst gemacht. Wir haben nur die Zahlen zusammengestellt, soweit sie in unsere Hände gelangt sind, diese aber auch, ohne irgend etwas wegzulassen. Nur die von Herrn Hutcheon in den Herden der Kap-Halbinsel ausgeführten Experimente sind in dieser Tabelle nicht zu finden. Wir beabsichtigen, sie für sich in einem besonderen Capitel kurz zu behandeln, aus bestimmten Gründen, welche dort auch besprochen werden sollen.

Die Tabelle zeigt, dass die Verluste an Rinderpest bei diesen 9077 Simultaninjectionen 128 Thiere aufweisen = 1·4 Procent. Nach Abzug der nur zu Veruchszwecken ausgeführten Injectionen sinkt die Verlustprocentzahl sogar auf 0·7 Procent.

Eine so grosse Statistik über Simultaninjectionen, die von den verschiedensten Inoculatoren an den verschiedensten Orten mit den verschiedensten Sorten virulenten Blutes vorgenommen sind, genügt, die Brauchbarkeit der Methode zu zeigen.

Die Zahl der wirklich in Süd-Afrika ausgeführten Simultaninjectionen darf auf die 20 bis 30fache Menge, als hier mitgetheilt, geschätzt werden.

Anlage Nr. 3.

Dauer der Immunität, welche durch eine Simultaninjection ohne nachfolgende Reaction (scheinbare Fehlimpfung) geschaffen wird.

Die folgenden in der Experimentalstation beobachteten Thatsachen widerlegen die von uns bei Beginn unserer Studien gemachte Annahme, dass Immunität von ganz vorübergehender Dauer etablirt wird bei denjenigen Thieren, die nach der Simultaninjection gar keine Reaction (Fehlen von Fieber, Durchfällen oder Fressunlust, vermehrter Secretion der Nasenschleimhaut) zeigen. Wir haben unsere Annahme jetzt durch die Mittheilung der Thatsache zu berichtigen, dass in solchen Fällen eine Immunität von mehrmonatiger Dauer bei Rindern etablirt wird, die vorher weder mit Galle noch mit Serum injicirt waren.

Tabelle Nr. III giebt eine Liste von 31 Thieren. Keines dieser Thiere zeigte nach den Simultaninjectionen Temperaturerhöhung, oder irgend ein Symptom von Rinderpest, ja überhaupt nicht die leiseste Abweichung vom Normalen, wie Fehlen der Remission der Temperatur am Morgen oder dergl. mehr. Wir haben zunächst angenommen, dass derartige Simultaninjectionen einen Fehlschlag darstellten.

Es hat sich indessen im weiteren Verlauf gezeigt, dass diese sämmtlichen Thiere mindestens für mehrere Monate immun gegen Rinderpest waren.



Tabelle III.

Rinder, welche nach den Simultaninjectionen scheinbar nicht erkranken, auf ihre Immunität geprüft.

Datum	Nummer	Dosis des Blutes in ccm	Dosis des Serums in ccm	Erfolg	Prüfung mit virulentem Blut ccm		Erfolg
28. August	422	1	10	am 3. u. 4. September keine Morgenremissionen, am 5. September Morgens 104° F.	15. Sept. 30. „ 8. Nov.	10 100 500	nichts nichts Reaction } später mit 1000 und 2000 ccm injicirt, dann für Serum benutzt.
4. October	757	1	20	keine Morgenremissionen	12. Oct. 19. Nov.	0·2 10	keiner Reaction
4. „	766	1	20	11. October keine Morgenremission	9. Nov. 27. „	50 200	Reaction „
4. „	763	1	20	9. u. 10. Oct. keine Morgenremission	12. Oct. 9. Nov.	0·2 50	keiner
26. Novbr.	961	1	40	keiner	13. Jan. 12. April	1 50	keiner
7. Decbr.	975	1	40	15. bis 18. Dec. hohe Morgentemper.	12. „	50	keiner
15. „	992	0·5	30	26. December Abends 104·6 28. „ „ 105·6	12. „	50	keiner
15. „	993	0·5	30	12. December Abends 103·8	12. „	50	keiner
15. „	994	0·5	30	22. bis 26. Dec. hohe Morgentemp.	12. „	50	keiner
15. „	995	0·5	30	20., 22., 23. Dec. hohe Morgentemp.	12. „	50	keiner
15. „	997	0·5	40	während einiger Tage Temperatur etwas höher	12. „	50	keiner
15. „	998	0·5	40	keiner	16. März 12. April	100 200	schwache Reaction
15. „	1000	0·5	40	keiner	16. März	100	Reaction
15. „	1001	0·5	40	keiner	12. April	200	„

Tabelle III. (Fortsetzung.)

Datum	Nummer	Dosis des Blutes in ccm	Dosis des Serums in ccm	Erfolg	Prüfung mit virulentem Blut ccm	Erfolg
23. Decbr.	1017	1	40	keiner	13. Jan. 10	keiner
23. „	1018	1	30	keiner	13. „ 10	keiner
23. „	1022	1	30	keiner	23. Febr. 50 12. April 50	keiner
23. „	1027	1	30	keiner	31. Jan. 1 12. April 50	keiner
23. „	1028	0·5	30	zweifelhafte Reaction	23. Febr. 50	keiner
5. Januar	1035	1	20	desgl.	12. April 50	†. Todte Frucht. 2. Februar
5. „	1036	1	20	keiner	23. Febr. 50	
5. „	1038	1	25	10. u. 11. Jan. Morgens hohe Temp.	23. „ 50	13. Januar lebendes Kalb.
5. „	1039	1	25	zweifelhafte Reaction	23. „ 50 12. April 50	keiner „
5. „	1041	1	25	keiner	12. „ 50	Reaction
5. „	1043	1	30	Reaction zweifelhaft	17. Jan. 50 15. März 1000	hohe Abendtemperatur Reaction
5. „	1044	1	40	18. Januar Morgens 103·4 Abends 104·8	27. Jan. 50 14. Febr. 100	keiner
4. Febr.	1107	1	20	7. bis 10. Februar hohe Abendtemp.	15. März 50	keiner
4. „	1108	1	20	keiner	23. „ 50	„
4. „	1109	1	15	Reaction zweifelhaft	17. April 500	schwache Reaction
14. „	1143	1	10	18. Februar keine Morgenremission	14. März 50	keiner

8 derselben waren Monate lang der Infection auf der Station täglich ausgesetzt, da dieselben Eimer für sie zum Tränken gebraucht wurden, wie für rinderpestkranke Thiere. In keinem einzigen Falle erkrankte eines der 8 Thiere.

Die übrigen 23 wurden in wechselnden Zeiträumen nach der Simultaninjection auf ihre Immunität geprüft durch subcutane Injection mit vollvirulentem Rinderpestblut 0·5 ccm bis 1500 ccm. Die hohe Infectiosität der betreffenden Blutprobe wurde, wie bei allen unseren Versuchen, stets durch andere Experimente an empfänglichen Thieren controlirt. Obgleich einzelne der Thiere 5 Monate nach der Simultanbehandlung so geprüft wurden, haben wir nicht ein Thier verloren. Einzelne Thiere zeigten nach Einverleibung sehr grosser Dosen des virulenten Blutes Reactionen, wie sie sich auch bei „gesalzenen" Thieren finden, erwiesen sich aber immun.

So sehr es wünschenswerth wäre, wenn bei Anwendung unserer Methode alle Thiere, die mit ein und derselben Probe geprüften Serums injicirt sind, eine milde Form der Krankheit durchmachten, um „gesalzen" zu sein, so ist doch die Thatsache, dass ein kleiner Procentsatz eben nicht gesalzen wird, kein Einwurf gegen unsere Methode, da auch diese Thiere eine Immunität von mehrmonatlicher Dauer durch den Process mitgetheilt erhalten.

Anlage Nr. 4.

Dauer der durch Injection von grossen Dosen Serums (100 bis 200 ccm) den Rindern verliehenen Immunität.

Wir geben folgende 5 Experimente als Beispiele, um zu zeigen, dass die Einverleibung grosser Dosen des Rinderpestimmunserums eine Immunität von mehrmonatlicher Dauer verleiht.

Diese Thatsache ist aus Gründen der allgemeinen Immunitätstheorie ebenso interessant und wichtig, wie vom praktischen Standpunkt.

Rind Nr. 783 wurde am 5. October 1897 mit 200 ccm Immunserum injicirt. Am 5. December, also 2 Monate später, wurde es mit 5 ccm virulenten Blutes eingespritzt, am 7. Januar, 3 Monate später, wieder mit 5 ccm Rinderpestblut; am 23. Februar, d. i. 4 Monate und 3 Wochen nach der Seruminjection erhielt es 50 ccm vriulenten Blutes, und heute, d. i. 199 Tage nach der Immunisirung, ist es völlig gesund. Es wurden nie Fieber oder Symptome von Rinderpest beobachtet, obgleich das Thier fortdauernd der Infection ausgesetzt wurde. Täglich wurden die Temperaturen gemessen und in die Bücher eingetragen.



Am 15. November wurde Thier Nr. 910 mit 400^{ccm} Rinderpestserum injicirt. Das Thier war täglich der Infection ausgesetzt, blieb aber völlig gesund und zeigte kein Fieber. Am 5. Januar starb es, aber nicht an Rinderpest, wie die Section ergab, sondern an einer Blutkrankheit, der Rindermalaria, oder Febris malarioformis.[1]

Am 15. Nov. erhielt Rind Nr. 211 200^{ccm} Serum subcutan. Einen Monat später, am 14. Januar, wurde es auf seine Immunität durch Einverleibung von 5^{ccm} Rinderpestblut geprüpft, und es erwies sich immun, ebenso am 23. Februar, als ihm 50^{ccm} virulenten Blutes injicirt wurden. Heute, also 148 Tage nach der Immunisirung durch das Serum, ist es völlig gesund.

Am 19. Nov. wurden Rinder Nr. 926 und 936 mit je 200^{ccm} Serum injicirt; am 7. Februar wurden sie mit 5^{ccm}, am 23. Februar mit 50^{ccm} virulenten Blutes das ihnen eingespritzt wurde, geprüft. Jetzt, also 144 Tage, nach der Seruminjection sind sie beide völlig gesund.

Controlexperimente zeigten in jedem Falle die hohe Infectionität des gebrauchen Blutes und ergaben ferner, dass normales Rinderserum selbst in Dosen von 1000^{ccm} Rinder nicht auf 24 Stunden gegen die tödtlich endende Infection mit 0·5^{ccm} virulenten Blutes zu schützen im Stande ist.

Anlage Nr. 5.

Die auf der Versuchsstation in Kimberley gemachten Simultaninjectionen.

Es ist nicht überflüssig, die auf der Experimentalstation ausgeführten Simultaninjectionen hier kurz für sich zu beschreiben, da wir jede, auch die geringfügigste Einzelheit über diese Experimente wissen.

Wir haben deshalb die Tabellen IV uns zusammengestellt.

Wie dort ersichtlich, sind 191 Ochsen und Kühe auf der Station mit Simultaninjectionen immunisirt worden. 69 davon starben, 122 genasen oder 64 Procent.

Dies Resultat der Versuche würde an sich wenig ermuthigend sein. Aber wir müssen den Verhältnissen, unter denen die Versuche stattfanden, bei der Beurtheilung der Ergebnisse Rechnung tragen.

Von Gegnern ist mehrfach behauptet worden, dass man mit unserer Methode auf einer Experimentalstation gute Resultate erhalten könne, die man nie und nimmer auf einer Farm erzielen würde.

[1] Näheres über diese Krankheit siehe *diese Zeitschrift.* Bd. XXVII.



Tabelle IV.

Zusammenstellung von 191 Fällen von Simultaninj., ausgeführt auf der Experimentalstation Kimberley. Ohne Auswahl.

Dose des Serums 5 ccm			Dose des Serums 10 ccm			Dose des Serums 15 ccm			Dose des Serums 20 ccm			Dose des Serums 25 ccm			Dose des Serums 30 ccm			Dose des Serums 40 ccm		
Zahl	†	G.[1]	Zahl	†	G.	Zahl	†	G.	Zahl	†	G.	Zahl	†	G.	Zahl	†	G.	Zahl	†	G.
6	6	—	3	0	3	2	1	1	2	—	2	3	1	2	5	1	4	4	—	4
1	1	—	6	6	—	2	—	2	8	2	6	2	—	2	3	1	2	3	—	3
—	—	—	4	3	1	2	—	2	3	2	1	—	—	—	4	2	2	5	—	5
—	—	—	6	4	2	2	1	1	33	21	12	—	—	—	5	1	4	—	—	—
—	—	—	2	1	1	2	—	2	6	3	3	—	—	—	6	—	6	—	—	—
—	—	—	2	1	1	—	—	—	10	4	6	—	—	—	5	—	5	—	—	—
—	—	—	2	—	2	—		—	10	—	10	—	—	—	2	—	2	—	—	—
—	—	—	2	—	2	—	—	—	6	4	2	—	—	—	4	—	4	—	—	—
—	—	—	1	—	1	—	—	—	4	2	2	—	—	—	3	—	3	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	1	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	7	—	28	15	13	10	2	8	92	39	53	5	1	4	37	5	2	12	—	12
Genesungen 0 %			Genesungen 43 %			Genesungen 80 %			Genesung. 57·6 %			Genesungen 80 %			Genesung. 86·5 %			Genesungen 100 %		

Tabelle V.

Die Versuche mit den wechselnden Mengen Serums wurden an folgenden Tagen ausgeführt:

Serum in ccm	20. August	30. „	2. Septbr.	8. „	1. Octbr.	2. „	4. „	4. „	5. „	9. Novbr.	11. „	11. „	12. „	26. „	7. Decbr.	15. „	23. „	23. „	1. Januar	5. „	15. „	20. „	20. „	4. Febr.	14. „	10. März
5	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	+	—	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—
15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	—	+	+	+
20	+	+	—	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—
25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
30	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

[1] G. = Genesen.

Nun ist zwar zuzugeben, dass man eigentlich erwarten müsste, auf einer Experimentalstation bessere Resultate zu erhalten, als wenn solche Injectionen von achtlosen und nicht geübten Personen ausgeführt werden. Grössere Uebung und Sorgfalt bedingt ja allgemein mehr Erfolg.

Man hat ferner die Versuche in Kimberley als blosse Laboratoriumsversuche hingestellt, während Versuche auf Farmen, von unkundigen und achtlosen Personen ausgeführt, als Proben von höchster Bedeutung für die Praxis und Theorie hingestellt sind.

In Wirklichkeit liegen die Sachen nun gerade umgekehrt, wie angenommen. Die äusseren Verhältnisse waren auf der Versuchsstation so ungeeignet für kranke Thiere, wie sie nur sein können.

In erster Linie war es für die Thiere sehr ungünstig, dass sie Tag und Nacht an die Pfosten gebunden, ohne sich ausgiebig bewegen zu können, der Unbill des Wetters, der sengenden Sonne während des Tages, den kalten Winden und dem Frost während der Nacht ausgesetzt waren. Bei den heftigen Regengüssen im Sommer mussten sie oft im Wasser liegen. Nun sind die meteorologischen Verhältnisse im Feld ja dieselben, das muss zugegeben werden. Aber die Thiere können sich dort bewegen, können Schutz vor der Sonne, gegen Wind und Regen unter den Bäumen aufsuchen.

So haben wir den Verlust vieler Thiere, mit denen wir experimentirten, zu beklagen, wo wir unter anderen Verhältnissen Genesung hätten erwarten können. Wir haben nach kalten windigen Nächten häufig Thiere verloren, die uns ausser Gefahr erschienen, aber durch die Krankheit so heruntergekommen waren, dass die Kälte sie tödtete.

Die Kimberley-Station ist eben ihrem Wesen nach eine Versuchsstation, und Versuche bedingen Verluste an Thieren. So z. B. haben wir verschiedentlich den unteren Grenzwerth der Schutzkraft des Serums feststellen wollen. Ferner mussten wir beim Prüfen des Serums nothwendigerweise Verluste haben. Dann hatten wir beim Beginn unserer Versuche im October ein Serum, dessen Werth wir nach unseren ersten Experimenten überschätzten, und von dem wir infolgedessen zu kleine Dosen anwandten.

Alles dies zusammen genommen hat den Procentsatz der Genesungen bei diesen 191 Versuchen herabgesetzt. Es wäre nicht gerecht, diese Zahlen als Massstab für die Beurtheilung unserer Methode zu benutzen. Dafür haben wir oben andere Statistiken gegeben.

2. Gerade die scheinbaren Fehlschläge auf der Station beim Experimentiren haben uns recht wichtige Anhaltspunkte für weitere Versuche gegeben, nämlich:

a) Thiere, welche eine sehr schwere Rinderpestattacke durchgemacht haben, und in ihren Ernährungsverhältnissen dadurch sehr herunterge-



kommen sind, sind zur Gewinnung des Serums nicht geeignet. So waren die schlechten Erfolge, die wir mit einer Serumprobe an 33 Thieren erlebten, dem Umstande zuzuschreiben, dass die Serum liefernden Thiere nach dem Ueberstehen der Krankheit in einer überaus traurigen körperlichen Verfassung waren, so dass sie trotz guten Futters nicht an Gewicht zunahmen.

b) 5 ccm Serum sind unter keinen Umständen für ein ausgewachsenes Rind genügend, während 10 ccm zuweilen genügen, und 15 ccm in den meisten Fällen.

c) Es ist absolut nothwendig, nur geprüftes Serum zu benutzen, ein Punkt, auf den wir schon in unserem ersten Bericht hinwiesen.

Trotz dieser rein Versuchszwecken dienenden, vielen Injectionen ergiebt sich, wenn die mit dem schwachen Serum im October v. J. oder nur mit 5 ccm Serum gemachten Injectionen von der Zahl 191 abgezogen werden, ei Verlust von 30 Thieren bei 129, d. i. = 77 Procent Genesungen.

Tabelle V zeigt, dass die allerersten Serumproben, welche wir von hochimmunisirten Thieren in Händen hatten, sehr hochwerthig waren. Anfang October wurde das Serum minderwerthiger und erreichte erst Anfang November den Werth des Titres von 30 ccm für Thiere von 300 kg Gewicht. Seit der Zahl ist der Werth des Serums andauernd gestiegen, und seit dem Beginn dieses Jahres ist er fast völlig constant geblieben.

Es muss hier ausdrücklich betont werden, dass wir zu keiner Zeit verlangt haben, dass nur eine Seruminjection gemacht werden dürfe. Im Gegentheil, wir haben in unserem ersten Bericht empfohlen, dass wir eine Injection zwar meist für ausreichend erachten, in Fällen, wo die Thiere sehr krank werden, aber eine zweite Dosis Serum empfehlen würden.

Von den 191 aufgeführten Thieren hatten 69 mehr als eine Dosis Serum erhalten. Aber zwei Fälle ausgenommen, wurden alle diese Nachinjectionen gemacht, als wir das schwache Serum in Händen hatten. Seit dem 5. Oktober ist nur 2 mal eine zweite Injection von Serum ausgeführt, d. i. 2 mal bei 129 Simultaninjectionen.

Obgleich wir solche Nachinjectionen von Serum nach den Simultaninjectionen nicht empfehlen, wollen wir sie nicht verbieten, müssen aber rathen, das Serum dann sofort zu Beginn des Fiebers zu injiciren.



Anlage Nr. 6.

Der Gebrauch des Blutes von Schafen, die mit virulentem Rinderpestblute injicirt sind, zu Simultaninjectionen.

1. Als das Verlangen an uns gestellt wurde, virulentes Blut zum Zwecke von Simultaninjectionen auf weitere Entfernungen von Kimberley z. B. nach Bulawayo zu senden, fanden wir grosse Schwierigkeiten, das zu

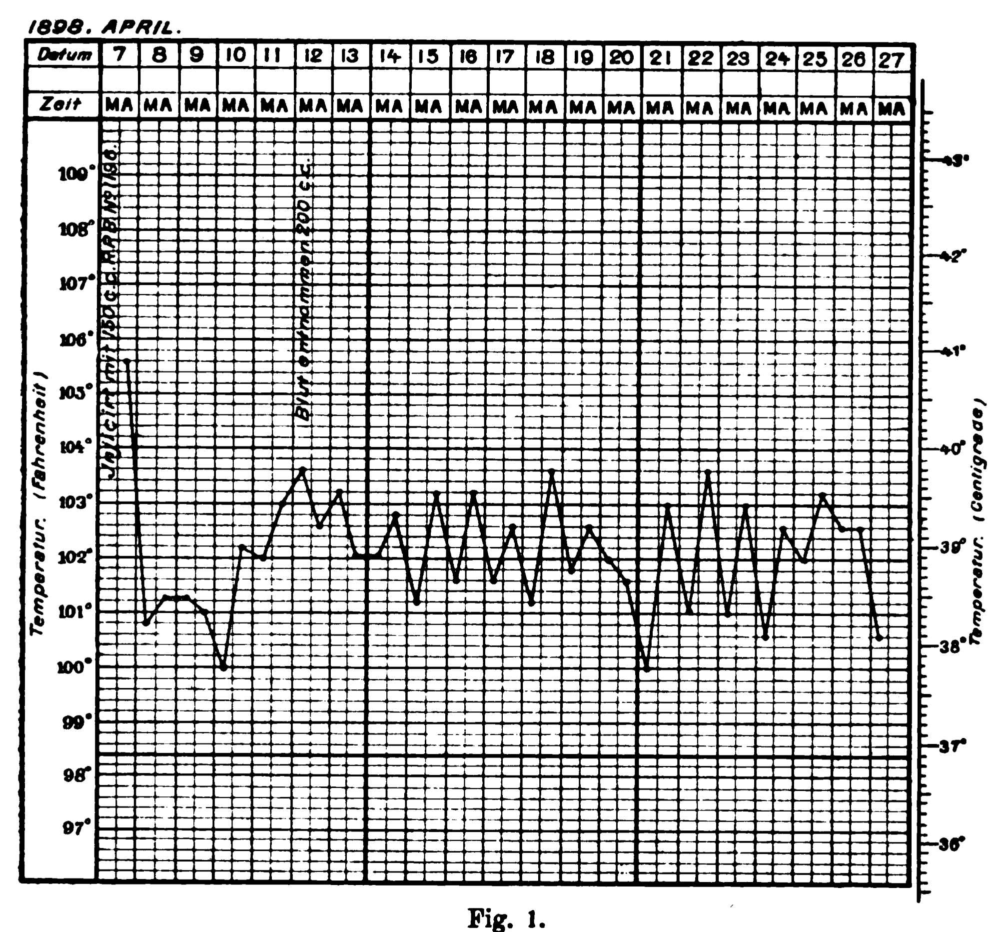


Fig. 1.

Schaf Nr. XXXVII. 7. April 1898. Injicirt mit 150 ccm Rinderpestblut Nr. 1196.

bewerkstelligen. Denn selbst in den Fällen, wo das Blut von den kranken Thieren unter den grössten Cautelen der Asepsis gewonnen war, gelang es nicht, das Blut frei von Bakterien, welche die Verwendung in Frage stellen können, an den Ort der Bestimmung gelangen zu lassen, sobald die Entfernung mehr als zwei Tagereisen war.

Kleine Mengen Blutes, z. B. 10 oder 22 ccm, kann man in Röhrchen eingeschmolzen leicht versenden, selbst hier in diesem heissen Klima, aber bei etwas grösseren Mengen haben wir fast stets Misserfolge erlebt.



Zunächst suchten wir diese Schwierigkeit dadurch zu überwinden, dass wir ein Rind, das gerade vor der Versendung mit virulentem Blute inficirt war, nach dem Orte, wo es dann geblutet werden könnte, sandten. Während der Reise befindet sich das Thier unter diesen Umständen im Incubationsstadium, und wird im Allgemeinen das Contagium nicht weiterverbreiten, da weder Fäces noch das Nasensecret dann infectiös sind.

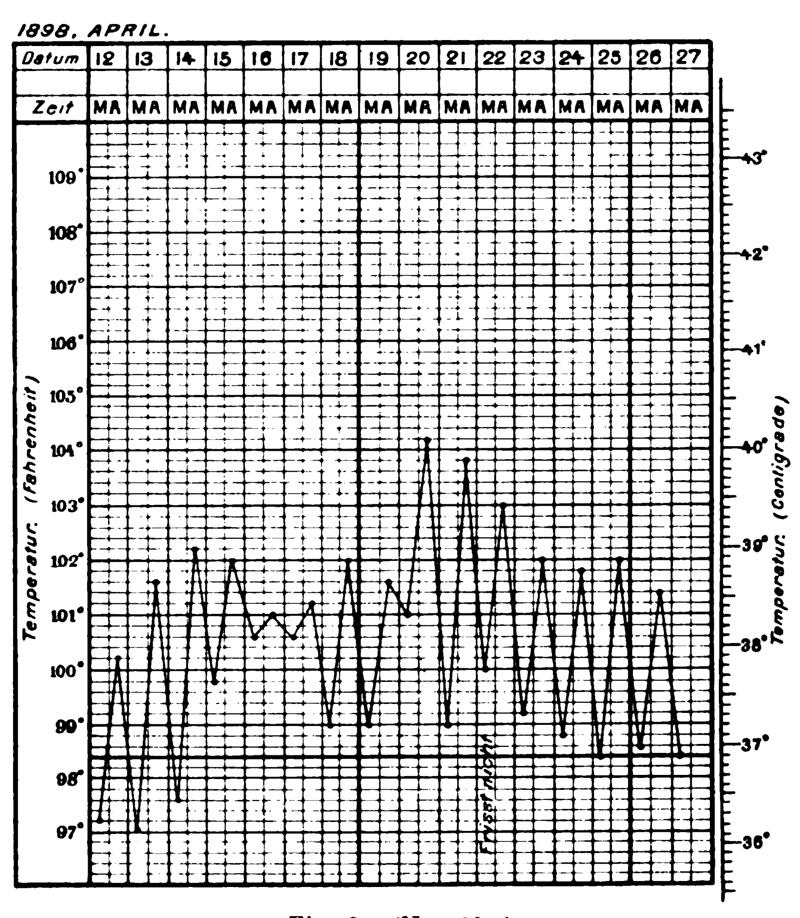


Fig. 2. (Nr. 1235.)
Gewicht 300 $^{\rm kg}$. 12. April 1898. Injicirt mit 5 $^{\rm ccm}$ Blut vom Schaf Nr. XXXVII und gleichzeitig mit 23 $^{\rm ccm}$ Serum Nr. 8 (gleich einer Dosis von 20 $^{\rm ccm}$ für ein Thier von 300 $^{\rm kg}$ Gewicht).

Indessen auch diesem Verfahren hafteten, wie wir bald ausfanden, Nachtheile an. Die Incubationsperiode ist häufig sehr kurz, zuweilen nur 48 Stunden. Sobald dann das Fieber einsetzt, sind die Thiere schwer zu transportiren, und wenn sie, wie es häufig nothwendig ist, weite Strecken zu Fuss gehen sollen, dann brechen sie zusammen.

Aus diesen Gründen wandten wir Schafen unsere Aufmerksamkeit zu. Diese Thiere sind für den Infectionsstoff, wenn er ihnen unter die Haut

gespritzt wird, wie R. Koch nachwies, empfänglich, denn sie zeigen häufig, nicht immer, Fieber von mehrtägiger Dauer. Wird Schafen nach der Injection mit Rinderpestblut Blut entnommen, so erweist es sich, wie gleichfalls R. Koch zeigte, in hohem Grade infectiös für Rinder.

Die Benutzung von Schafen bietet erhebliche Vortheile dar:

a) Schafe erkranken nicht an den Krankheiten, welche für Rinder so

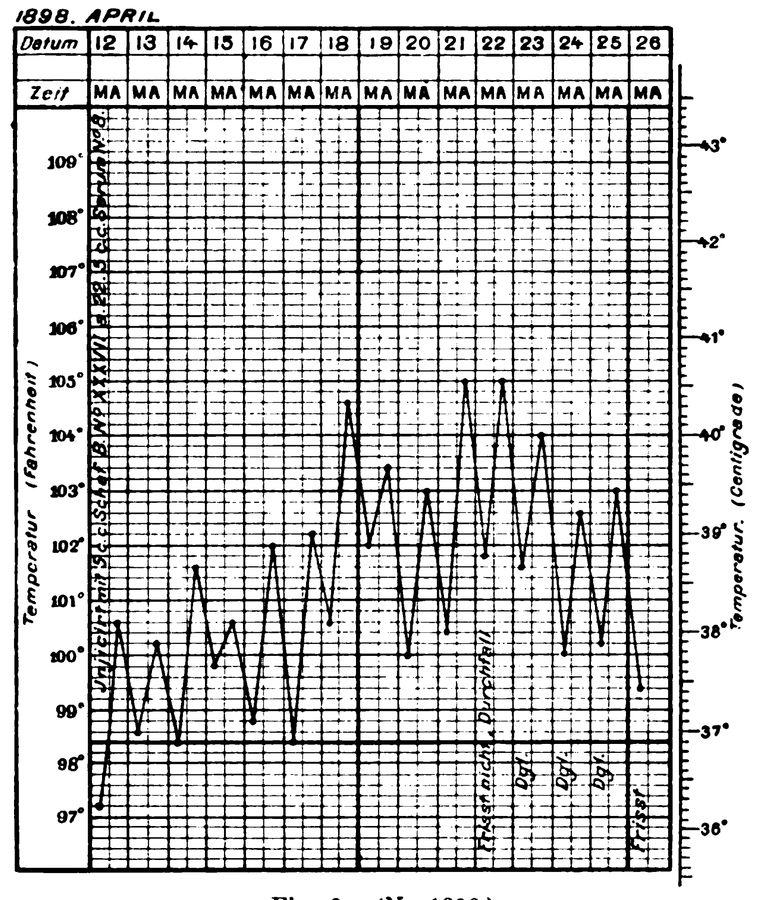


Fig. 3. (Nr. 1236.)

Gewicht 450 kg. 12. April 1898. Injicirt mit 5 ccm Blut vom Schaf Nr. XXXVII (entnommen am 12. April) und gleichzeitig an der anderen Körperseite mit 22·5 ccm Serum Nr. 8 (gleich einer Dosis von 15 ccm für ein Thier von 300 kg Gewicht).

verderblich sind, Lungenseuche, Texasfieber, Fibris malarioformis. Es ist daher die Gefahr, durch das Blut von Schafen neben dem Rinderpestinfectionsstoffe derartige Krankheiten zu übertragen, so gut wie ausgeschlossen.

b) Schafe werden unter dem Einflusse des Rinderpestmikroben, wenn er ihnen unter die Haut injicirt wird, zwar krank, sie zeigen Temperatursteigerungen von kürzerer oder längerer Dauer, aber Durchfall und ver-



mehrte Ausscheidung der Nasenschleimhaut treten nicht ein. Es besteht also von vornherein, kann man sagen, keine Gefahr, dass durch solche Schafe, deren Blut so infectiös ist, Rinderpest ausgebreitet wird.

Thatsächlich haben wir durch das Experiment festgestellt, dass weder Fäces noch Nasenschleim solcher inficirter Schafe für Rinder infectiös sind. Reibt man nämlich Rindern die genannten Excrete in das Maul und die Nase ein, so bleiben sie, selbst wenn man Verletzungen der Schleimhaut

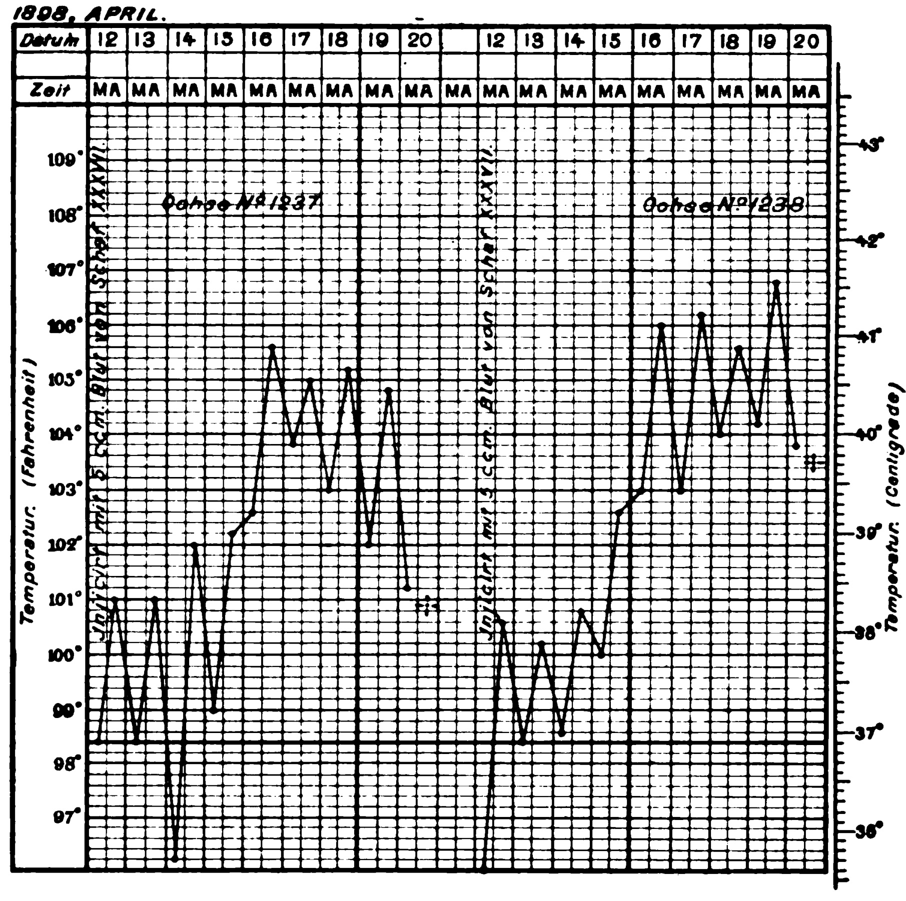


Fig. 4.

Ochsen Nr. 1237 und 1238 wurden am 12. April mit Blut vom Schaf Nr. XXXVII injicirt, um zu zeigen, dass das Blut virulent ist. Beide Thiere starben am 8. Tage nach der Injection.

herstellt, völlig gesund. Bekanntlich sind der Nasenschleim und die Fäces von Rindern, die an der Pest leiden, äusserst infectiös.

Nur ein Einwurf könnte vielleicht gegen die Benutzung des Schafblutes erhoben werden.

R. Koch hatte beobachtet, dass die fortgesetzte Passage des Rinderpestinfectionsstoffes von Schaf zu Schaf die Virulenz der Pestmikroben zu



erhöhen scheint. Nach unseren Experimenten zu urtheilen, scheint das thatsächlich die Regel zu sein. Wir hatten deshalb vorsichtig zu verfahren. Aber es zeigte sich sehr bald, dass eine Passage auf keinen Fall die Virulenz so erheblich erhöht, dass Schafblut selbst in grosser Dosis nicht zu gebrauchen wäre zu Simultaninjectionen.

Unsere ersten Versuche mit der Versendung solcher inficirter Schafe schienen nicht sehr versprechend zu sein. Da wir wussten, dass nicht alle Schafe auf die Injection des virulenten Blutes mit Fieber reagirten, so sandten wir stets zwei oder mehr Thiere zugleich weg. Wir wurden indessen fast regelmässig von den Empfängern benachrichtigt, dass die von uns gesandten Thiere unbrauchbar seien, weil sie keine Symptome von Rinderpest zeigten. Diese Annahme ist nun aber unzutreffend.

Wir haben feststellen können, dass Blut von Schafen nach der Injection von 100 bis 200 ccm virulenten Rinderpestblutes vom 3. bis 8. Tage nach der Injection vollvirulent ist, d. h. in jedem Falle tödtlich wirkt, selbst dann, wenn die Schafe auch nicht die leiseste Abweichung der Temperatur und des Allgemeinbefindens von der Norm aufweisen.

Seit wir die Empfänger der Schafe von diesen Thatsachen benachrichtigen, haben die ersteren gute Resultate zu berichten.

Die beifolgenden Temperaturcurven mögen als Beispiele dienen und zeigen das augenfällig. Es geht weiter aus denselben hervor, dass solches Schafblut sich für Simultaninjectionen eignet. Es mag hierbei darauf hingewiesen werden, dass Thier Nr. 1235, welches eine Dosis von 20 ccm Serum für je 300 kg Gewicht erhielt, eine milde Rinderpestfieberattacke hatte, ohne Durchfälle, während Rind Nr. 1236, welches die kleinere Dosis von 15 ccm für je 300 kg hatte, einen schwereren Rinderpestanfall durchmachen musste. Diese beiden Curven sind typische Beispiele dafür, wie die Dosis des Immunserums die Intensität der Rinderpestattacke bei Simultaninjectionen beeinflusst.

Anlage Nr. 7.

Der Versuch auf Robben Island.

I.

1. Gemäss Verfügung des Landwirthschaftsministers begab sich Dr. Turner am 1. December 1897 nach Robben Island, um Schutzimpfungen gegen Rinderpest an den auf der Insel befindlichen Rindern vorzunehmen.

2. Dieser Versuch wurde vorgenommen, um Gewissheit darüber zu gewinnen, ob Rinder nach den Simultaninjectionen in völlig seuchefreien



Districten dann auch thatsächlich erkranken. Denn von Gegnern der Methode wurde, trotzdem fast alle Beobachtungen dagegen sprachen, doch noch aufrecht erhalten, die in Kimberley und anderwärts erzielten positiven Ergebnisse seien dadurch zu erklären, dass die Thiere dort sich spontan hätten inficiren können. Nicht das mit dem Serum injicirte virulente Blut sei die Ursache des Fiebers, sondern Spontaninfection.

Obgleich dem mit der Immunitätslehre Vertrauten eine solche mehr theoretische Erwägung von vornherein absurd erschien, so ergriffen wir doch die von der Regierung uns gebotene Gelegenheit, durch den Versuch die Annahmen endgültig zu widerlegen.

Mr. George Piers, der Commissioner der Insel, hatte ganz vorzügliche Vorbereitungen für die Ausführung des Versuches getroffen.

3. Da viele von den Kühen trächtig waren, so wurde es nicht für angebracht gehalten, diese Thiere der Rinderpest, wenn auch nur in leichter Form, auszusetzen. Denn durch das dabei unvermeidliche Fieber werden häufig Aborte hervorgerufen, die meist den Tod der Mütter bedingen.

4. Es wurde daher beschlossen, diese Thiere durch Injection von 150 ccm Immunserum zu schützen. Die Thiere waren dann, wenn die anderen Thiere erkrankten, ausser Gefahr, sich zu inficiren.

Obgleich durch diese Massregel die Zahl der Versuchsthiere verringert wurde, so ist dieselbe doch nicht zu bedauern. Denn es zeigte sich dabei, dass durch das Serum eine Immunisirung von Milchkühen möglich ist, ohne dass die Milch wegbleibt.

Ferner wurde hier beobachtet, was wir auf der Experimentalstation auch schon hatten feststellen können, dass der Injection einer so grossen Serumdosis häufig eine vorübergehende Temperatursteigerung folgt. Diese Wirkung grosser Immunserumdosen ist aber keine specifische Wirkung. Auch das normale Rinderserum zeigt solche Einflüsse auf die Temperatur der damit injicirten Thiere. Es handelt sich hier offenbar um reizende Substanzen, die im Serum enthalten sind, und in Bezug auf ihre Wirkung der Temperaturerhöhung ihr Analagon in den Substanzen haben, welche in dem Diphtherieserum, namentlich dem vom Pferde gewonnenen, sich finden und Urticaria, Gliederschmerzen u. s. w. so häufig bei Kindern erzeugen. Keines der Thiere, die auf diese Weise durch Serum geschützt waren, erkrankte während des nun folgenden Experimentes oder später an Rinderpest.



Anlage Nr. 8.

Versuch auf Robben Island.

II.

Am 6. December wurde in Kimberley einem rinderpestkranken Thiere (Nr. 953) Blut entnommen, unter aseptischen Kautelen, und nach Robben Island geschickt. Es kam dort am 8. December in gutem Zustande an und wurde 4 Stunden nach seiner Ankunft injicirt. Bis zum Augenblicke der Ankunft des Blutes war die Insel völlig rinderpestfrei. Da die Kiste, in der das Blut verpackt war, erst unmittelbar vor der Operation des Einspritzens geöffnet wurde, so konnte keines der Rinder, die injicirt wurden, vor dem wirklichen Anfang des Versuches inficirt sein. Wenn sich daher in der Folge Rinderpest unter den injicirten Thieren zeigte, so konnte über ihren Ursprung kein Zweifel bestehen.

Die Thiere, 53 an Zahl, wurden an Pfosten gebunden, mit Nummern versehen und dann gleichzeitig mit Serum und virulentem Blute, das vorher noch durch mikroskopische Untersuchung als frei von Bakterien erwiesen war, injicirt. Die Thiere waren ihrer Grösse nach geordnet und die Serumdosis wurde dementsprechend gewählt.

Die Mittheilungen, welche Dr. Turner von Dr. Kolle über die Werthigkeit des Serums erhielt, liessen ihn annehmen, dass 25 ^{ccm} des Serums genügen würden, um bei einem Thiere von ca. 300 ^{kg} Gewicht die gewünschte Reaction zu erzielen, wenn gleichzeitig 0·5 ^{ccm} virulenten Blutes den Thieren einverleibt wurde. Es war aber Dr. Kolle nicht möglich mit absoluter Sicherheit die Dosen anzugeben, da der Versuch noch nicht abgeschlossen war, durch welchen der Werth des Serums in diesem Falle bestimmt werden sollte. Es wäre ja vielleicht gerathen gewesen, noch einige Tage zu warten, bis der Werth dieses Serums durch die Prüfung genau festgelegt war, und dann erst mit dem genau titrirten Serum den Versuch auf Robben Island zu machen. Aber andere Umstände verlangten die sofortige Ausführung des Versuches. Deshalb injicirte Dr. Turner noch am 8. December die 53 Thiere mit Dosen, die von 10 bis 30 ^{ccm} betrugen, entsprechend der Grösse der Rinder.

Ein Theil des verwandten Serums war mit Carbol, ein anderer mit Formalin zum Zwecke der Haltbarmachung versetzt. Es zeigte sich hier, dass eine Anzahl Thiere, namentlich die mit formalisirtem Serum injicirten, eine unmittelbar der Injection folgende Temperatursteigerung hatten, die in einigen Fällen 48 Stunden anhielt.

Bis hierher war alles nach Wunsch und Absicht gegangen. Aber am 10. December erhielt Dr. Turner von Dr. Kolle einen Brief, in dem der Ausfall der Prüfung des Serums mitgetheilt wurde. Der Titre des



Serums war danach 30 ccm für ein Thier von 300 kg Gewicht und nicht 25 ccm.

Die Sachlage war deshalb für Dr. Turner folgende: Wenn er den Versuch ruhig weiter gehen liess, ohne irgend etwas zu thun, dann war das Risico, vielleicht einige Thiere zu verlieren, andere so schwer an der Pest krank zu haben, dass sie völlig herunter kamen. Wenn andererseits 2 Tage nach der Simultaninjection eine zweite Dosis Serum gegeben würde, dann wäre der Zweck, die Thiere rinderpestkrank zu machen, vielleicht verfehlt worden. Aus diesem Dilemma wurde folgender Ausweg gefunden: Alle Rinder, die Privatpersonen gehörten, wurden mit Serum reinjicirt, von den Regierungsthieren dagegen wurden nur fünf grosse Frieslandochsen sowie ein „Pedigree-Ochse" mit einer zweiten Dosis Serum eingespritzt und zwar 40 ccm.

Während hierdurch bei einer Anzahl Thiere die Klarheit des Versuches etwas getrübt wurde, so erwies sich die Injection verschiedener Serummengen insofern von Werth, als es die Bedeutung der Berücksichtigung von Körpergrösse der Thiere und Dosis des Serums in das rechte Licht setzte.

Der Erfolg des Versuches war, dass von den 52 Thieren 40 ein typisches Rinderpestfieber zeigten.

Mit Rücksicht auf die zweite Seruminjection müssen die Thiere in zwei Kategorien eingetheilt werden. Die eine Kategorie umfasst alle die Privatpersonen gehörenden Rinder sowie die grossen Frieslandochsen, also 25 Thiere zusammen, welche zwei Seruminjectionen vor Beginn des Fiebers erhielten. Acht von diesen zeigten keine Reaction. Die an zweiter Stelle injicirten Serumdosen waren offenbar zu hoch gewählt.

Von den übrigen 27 Thieren, die Eigenthum der Regierung sind und nur die Simultaninjectionen erhielten, (keine zweiten Seruminjectionen), hatten vier keine ausgesprochene Reaction. Bei zwei Thieren von den vieren war indessen einige Tage die Temperatur etwas höher, und ein Thier litt an Durchfall. Nur ein Thier zeigte gar keine Abweichung von der Norm; es war ein Kalb, welches, auf das Körpergewicht bezogen, eine zu grosse Serumdosis erhielt.

Das Fieber setzte bei fast allen Thieren am 6. Tage nach der Injection ein, nur bei wenigen Thieren schon am 5. Tage, bei ganz vereinzelten am 8. Tage.

Die Dauer des Fiebers war durchschnittlich $4^1/_2$ Tage.

Alle Thiere genasen, mit Ausnahme einer sehr alten Kuh, die keine schwere Attacke der Krankheit hatte, sondern an leichter Form der Krankheit litt und wohl sicher genesen wäre, wenn sie nicht so alt gewesen wäre.

14 Kühe, die der Simultanmethode unterworfen wurden, waren zur Zeit der Injection in Milch.

Alle Thiere behielten die Milch selbst während des Fiebers, nur bei einer Kuh setzte die Milch während 24 Stunden aus, erschien dann aber wieder. Während der Höhe des Fiebers war die tägliche Milchmenge allerdings bei allen Thieren etwas herabgesetzt.

Dr. Turner trank jeden Morgen ein Glas Milch, die von den rinderpestkranken Thieren stammte, ohne irgend welchen Schaden. Auch alle Anderen, welche die Milch genossen, befanden sich völlig wohl.

Da die verschiedenen Abstufungen, welche in der Höhe und Dauer des Fiebers und in der Schwere der Symptome bei den einzelnen Thieren zu beobachten waren, ausser den physiologischen Verschiedenheiten im Thierorganismus sicher zum grössten Theil, wie wir in Kimberley schon festgestellt hatten, der Menge des gebrauchten Serums auf das Körpergewicht berechnet, proportional sind, so nahm Dr. Turner die hier gebotene Gelegenheit wahr, durch exacte Wägung das Gewicht einer Anzahl Thiere zu bestimmen, um dadurch womöglich eine Formel zu finden, mit Hülfe deren man das Gewicht eines Thieres leicht ermitteln kann, wenn man einige äussere Maasse kennt. Solche Maasse lassen sich leicht überall, auch im Felde nehmen, falls man nur über ein Maass verfügt.

Es wurde folgende Formel gefunden zur Bestimmung des Gewichtes der Rinder:

Wenn G den Umfang des Leibes, hinter den Schulterblättern gemessen, darstellt und L die Länge des Thieres, gemessen vom Nacken (letzter Halswirbel) bis zum Promontorium des Kreuzbeines, und W das gesuchte Gewicht darstellt, dann ist:

$$W = \frac{G^2 . L}{0.142}.$$

Wenn nun die Gewichte der Thiere, welche bei diesem Versuche injicirt waren, auf diese Weise ermittelt wurden, dann zeigt sich, dass 0·12 ccm des benutzten Serums diejenige Menge für jedes Kilo lebendes Gewicht darstellte, welche genügte, um jede Reaction bei den Thieren zu verhindern, d. h. die Menge, welche den Bruchtheil von 1 ccm virulenten Blutes in jedem Kilo Rinderkörper gerade neutralisirte.

Man darf natürlich nicht erwarten, dass die ermittelten Serumtitres die Genauigkeit der Titres einer chemischen Reaction besitzen. Denn der lebende Körper steht unter dem Einflusse jener individuellen Unterschiede, die bei allen Prüfungsversuchen von Sera zu beobachten, in Rechnung zu ziehen und doch nicht zu vermeiden sind. Wir haben bis jetzt keine greifbare Unterlage zur Erklärung dieser Individualverhältnisse. Es ist ein Glück, dass allerdings nur ein kleiner Bruchtheil der dem



Process unterworfenen Thiere durch diese Verhältnisse beeinflusst wird (nicht mehr als 10 Procent).

Während der Versuch auf der Insel zum Abschluss gelangte, war auch die Prüfung des Serums in Kimberley beendigt. Rinder Nr. 956 bis 968 wurden mit 0·5 ccm virulenten Blutes und wechselnden Mengen Serums gleichzeitig injicirt.

Nr. 956 und 957	mit 40 ccm	formalisirten	Serums
„ 958, 959 und 960	„ 30 „	„	„
„ 961 und 962	„ 40 „	carbolisirten	„
„ 963, 964 und 965	„ 25 „	„	„
„ 966, 967 und 968	„ 20 „	„	„

Alle diese Thiere mit Ausnahme eines einzigen hatten einen Rinderpestanfall und alle mit Ausnahme von Nr. 966 und 967 genasen. Nr. 961, welches nicht reagirte, wog 320 kg und war mit 40 ccm Serum injicirt, das ist 0·124 ccm für 1 kg Körpergewicht. Nr. 966 und 967 starben.

Diese Zahl stimmt genau mit der auf Robben Island ermittelten überein, dass 0·124 ccm pro 1 kg Gewicht die neutralisirende Dosis ist.

Durch die Prüfung in Kimberley auf der Versuchsstation ergab sich, dass von diesem Serum eine viel kleinere Menge, als ursprünglich angenommen war, genügte, um den Zweck der Simultanmethode zu erfüllen, d. h. den Thieren eine zur Genesung führende Rinderpestattacke durchmachen zu lassen.

Anlage Nr. 9.

Der Versuch in Tokai.

Am 31. December 1897 wurde Dr. Turner von der Regierung nach Tokai geschickt, wo er 40 Ochsen, Kühe und Kälber verschiedener Grösse zur Ausführung der Simultaninjectionen bereit fand.

Am 1. Januar wurden alle Thiere gemessen, und nach den Maassen auf Grund der oben mitgetheilten Formel das Gewicht derselben ermittelt. Auf Grund der Angaben über den Titre des Serums, welche von Dr. Kolle von Kimberley gesandt waren, wurde beschlossen, die Thiere mit 20 ccm Serum pro 300 kg Körpergewicht zu injiciren.

Die Heerde enthielt 13 Kühe in voller Milch, 10 fast am Ende der Milchperiode, eine trächtige Kuh, 10 junge Kühe, 3 werthvolle Frieslandkälber und 3 Ochsen. 2 Milchkühe, 2 junge Kühe und 1 Ochse gehörten nicht der Regierung, sondern waren Privateigenthum.

Es wurde beschlossen, auf jeden Fall die Frieslandthiere, die Ochsen und die Privatleuten gehörigen Thiere am Leben und die Milch einigen Thieren dadurch zu erhalten, dass eine grosse Serumdosis nach der Simultaninjection dann gegeben würde, wenn es nothwendig erscheine. Die Regierungsthiere, soweit sie nicht zu diesen Thieren gehörten, sollten indessen nur die Simultaninjection erhalten.

Das Experiment konnte nicht vor dem 7. Januar begonnen werden, wegen Mangels an virulentem Blute. Am 7. Januar wurden 17 Thiere mit 1 ccm virulenten Blutes, das von einem Rinderpestfalle in Wynberg herrührte, und am 8. Januar die übrigen 23 Thiere mit 1 ccm virulenten Blutes, das von der Serumstation Eerste River erhalten war, injicirt, und gleichzeitig mit Serum.

Eine Milchkuh wurde tuberkulös gefunden. Auf Anrathen von Mr. Hutcheon wurde sie mit 200 ccm Serum geschützt.

29 von den 40 injicirten Thieren erkrankten an Rinderpest. Die Incubationsperiode schwankte zwischen 3 und 8 Tagen. Die Dauer des Fiebers und die Schwere der Symptome waren auch recht schwankend. Sechs Thiere litten an heftigen Durchfällen, doch fehlte Blut in den Dejecten.

Die Milchsecretion war nur bei einer Kuh einen Tag etwas herabgesetzt, zeigte aber keine Verminderung oder Veränderung bei allen anderen Milchkühen.

Die trächtige Kuh kalbte am normalen Ende der Schwangerschaft, aber eine todte Frucht. Eine andere Kuh abortirte. Beide Mütter blieben am Leben.

13 Thiere erhielten eine zweite Seruminjection, wobei 757 ccm Serum verbraucht wurden.

Ein Thier erhielt eine dritte Seruminjection.

Die gesammte Serummenge, die gebraucht wurde, betrug 1899 ccm, im Durchschnitt pro Thier 48·7 ccm. Wenn die Menge, welche für Immunisirung einiger Thiere durch grosse Serumdosen gebraucht wurde, abgezogen wird, dann bleibt die Menge pro Thier 37 ccm.

Um die Immunität derjenigen Thiere zu prüfen, welche keine Reaction nach den Simultaninjectionen gezeigt hatten, wurden 9 von diesen 10 Thieren jedes mit je 10 ccm virulenten Blutes injicirt. Der Erfolg war eine vorübergehende Temperatursteigerung, als Reaction von uns gewöhnlich bezeichnet, wie sie bei gesalzenen Thieren sich findet.

Kein Thier starb.



Anlage Nr. 10.

Der Versuch auf „Prospect Farm“.

Hier waren 28 Rinder zusammengebracht aus der Umgegend. Sie wurden mit Nummern versehen, ihre Maasse genommen zur Ermittelung des Gewichtes und ihre Temperaturen gemessen. Dann wurden sie mit 1 ccm virulenten Blutes und 20 ccm Serum pro je 300 kg Körpergewicht injicirt. Zwei Thiere zeigten in der Folge keine Reaction, alle anderen Thiere hatten mässig intensive Rinderpestanfälle und genasen sämmtlich. 17 erhielten eine zweite Seruminjection. Die Gesammtmenge des verbrauchten Serums betrug 1252 ccm, gleich 45 ccm pro Kopf. Die Incubationsperiode schwankte zwischen 5 und 9 tägiger Dauer. Die Dauer des Fiebers betrug von 2 bis zu 5 Tagen.

Anlage Nr. 11.

Die Epidemie von Rindermalaria oder Febris malarioformis unter den Rindern auf Robben Island.

Am 17. Januar 1898 wurden wir benachrichtigt, dass unter den Rindern auf Robben Island wieder Rinderpest ausgebrochen sei. Ein Thier sei schon todt, ein anderes im Sterben und drei oder mehr seien krank.

Wir haben nicht einen Augenblick angenommen, dass die Krankheit, an der die Rinder auf der Insel erkrankten und starben, Rinderpest sei, ebenso wenig aber gezweifelt, dass die öffentliche Meinung trotzdem die Krankheit als Rinderpest bezeichnen würde und dass die Gegner unserer Methode die ganze Sache als ein Mittel benutzen würden, um das Vertrauen in dieselbe zu erschüttern.

Dr. Turner, begleitet von einem Regierungsthierarzt, stattete noch an demselben Tage der Insel einen Besuch ab. Der Thierarzt machte eine sorgfältige Obduction, konnte aber auch nicht ein Anzeichen für Rinderpest finden.

Einige Tage später begleitete Dr. Turner den Chef des Veterinärwesens, Mr. Hutcheon. Auch an diesem Tage wurde eine Obduction eines gerade gestorbenen Thieres gemacht. Mr. Hutcheon erklärte, die Krankheit, an welcher die Thiere stürben, sei nicht Rinderpest, noch hätten die vorgekommenen Todesfälle irgend etwas zu thun mit dieser Krankheit.

Wie nun die weitere Untersuchung und Beobachtung dieser Krankheit zeigte, handelte es sich hier zunächst, nach den Symptomen und pathologischen Veränderungen zu schliessen, um eine Krankheit, die wir



schon häufig auf der Station bei Kimberley zu beobachten Gelegenheit hatten und auch studiert haben.[1] Die eigenartige Krankheit ist nach unseren Beobachtungen überhaupt viel weiter in Süd-Afrika verbreitet, als wir annahmen. Sie findet sich auch in weiter Verbreitung in den Distrikten, die immun gegen ähnliche Blutkrankheiten, z. B. das Texasfieber, sind.

Im Volksmunde wird diese Krankheit meist als „Gall zickte" bezeichnet, weil man annimmt, dass dabei die Leber afficirt sei.

Die Temperaturcurven hatten nichts, was für Rinderpest spräche, sie zeigten vielmehr den Typus starker Remissionen, 41° C. Abends, 37° C. Morgens.

Die Symptome waren Verstopfung, Schwäche, Tod im Koma oder Collaps, Fressunlust.

Die pathologischen Veränderungen waren Vergrösserung der Milz, wässeriges Blut und zuweilen Blutanhäufung in der Leber.

Der Tod erfolgt häufig ganz plötzlich. Von 24 Thieren, die erkrankten, starben 12. Es wurde nie Blut im Urin beobachtet.

Der unumstössliche Beweis, dass es sich nicht um Rinderpest handeln könne, wurde ferner erbracht durch die mikroskopische Blutuntersuchung, die von Dr. Kolle an einer ihm gesandten Blutprobe vorgenommen wurde. Die Blutprobe wurde auf der Insel von einem kranken Thiere entnommen unter aseptischen Kautelen und nach Kimberley zu Dr. Kolle gesandt. Dieser fand den von ihm entdeckten intracorpusculären Parasiten darin. Die Präparate wurden verschiedentlich demonstrirt und liessen keinen Zweifel an der Natur der Seuche.

Es fragte sich nun, wie die Seuche nach der Insel verschleppt war.

Es liegen da zwei Möglichkeiten vor. Entweder wurde der Infectionsstoff durch die Blutinjection auf die Rinder übertragen, oder er gelangte auf andere nicht bekannte Weise zu den Thieren.

Obgleich es uns nicht möglich war, mit absoluter Sicherheit zu beweisen, dass die Krankheit nicht durch die Blutinjectionen übertragen wurde, ist doch höchstwahrscheinlich anzunehmen, dass das Auftreten der Febris malarioformis unter den Rindern der Insel in keinem Zusammenhang mit dem obigen Experiment stand, und zwar aus folgenden Gründen:

Bei der Hochtreibung der Immunisirungsthiere auf der Station hatten wir beobachtet, dass die Krankheit für gewöhnlich nur durch Injection grosser Blutmengen (500 und 1000 ccm) mit Sicherheit übertragen wird, bei Injection kleiner Blutmengen (10 und 20 ccm) dagegen fast nie.

---

[1] W. Kolle, Ueber einen neuen pathogenen Parasiten im Blute der Rinder in Süd-Afrika. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXVII.



Nun sind die Rinder auf der Insel bei dem obigen Versuch nur mit 0·5 ccm einer Blutprobe injicirt, mit der auch auf der Station verschiedene Thiere injicirt wurden. Am 6. December wurden 5 Thiere mit je 1500 ccm von Blut Nr. 953 eingespritzt. Eines von diesen Thieren erkrankte später an der Rindermalaria. Aber da wir auch spontan die Thiere auf unserer Station an dieser Seuche erkranken und sterben sahen und seit 8 Monaten nie frei von der Krankheit waren, so fällt diese eine Erkrankung nicht ins Gewicht gegenüber der Thatsache, dass die 4 anderen Thiere nach Injection von 1500 ccm von Blut Nr. 953 völlig gesund blieben. Hätte das Blut Nr. 953 thatsächlich den Parasiten enthalten, dann wären alle Thiere, nach unserer Erfahrung, nach der Infection erkrankt und gestorben.

Es erkrankten im Ganzen auf der Insel 24 von den Thieren, und 12 davon starben.

Anlage Nr. 12.

Modificationen unserer Serummethode.

Nach Bekanntwerden unserer Methode wurden von verschiedenen Seiten Versuche angestellt, um die von uns entdeckte Immunisirungsmethode zu modificiren und zu verbessern.

Die Verbesserungen haben wir selbst durchgeführt; Modificationen vielfach auch versucht, können indessen keine andere Versuchsanordnung so wie die Simultanmethode empfehlen.

Die von Mr. Hutcheon, dem Chef des Veterinärwesens in der Capcolonie, neuerdings empfohlene Modification besteht darin, das Serum 48 Stunden später als das virulente Blut zu injiciren, dann täglich die Temperatur der Thiere zu messen und beim Beginn des Fiebers eine zweite grosse Serumdosis den Thieren einzuverleiben.

Diese Versuchsanordnung ist keineswegs eine originelle Idee Mr. Hutcheon's. Wir haben bereits im September vorigen Jahres die Immunisirung der Rinder auf diese Weise verschiedentlich durchgeführt, aber wegen der unten zu besprechenden Nachtheile gegenüber der Simultanmethode sie nicht allgemein empfohlen. Auch Mr. Hutcheon wurde pflichtschuldigst von dem Ausfall dieser Versuche benachrichtigt.

Trotzdem hat er diese Versuchsanordnung verschiedentlich, so auch in seinem letzten Bericht, als der Simultanmethode gleichbürtig, wenn nicht überlegen hinzustellen gesucht. Es muss hier nun gleich bemerkt werden, dass man eine solche umständliche Procedur, bei welcher Thiere drei Mal gefesselt und injicirt, sowie fortwährend gemessen werden müssen, mit dem Namen einer praktischen Methode nicht belegen kann.



Auf einer Versuchsstation kann man wohl eine kleine Anzahl Thiere auf diese Weise immunisiren, bei Durchführung in Districten mit Tausenden von Rindern kann von der Anwendung des Verfahrens, bei dem ausserdem, wie bewiessen werden wird, grosse Serummengen vergeudet werden, nicht die Rede sein.

Mr. Hutcheon gründete einen Widerspruch gegen die Simultanmethode, ebenso wie er es bei der Gallenmethode gethan hatte, nicht auf Thatsachen, sondern auf theoretische Bedenken, die er in Folge kritikloser Registrirung von Beobachtungen hatte. Seine Erwägungen waren ungefähr folgende:

Wenn Blut und Serum gleichzeitig in ein Thier injicirt werden, dann zerstört das Immunserum den im Blut enthaltenen Infectionsstoff, daher keine Erkrankung.

Als durch viele Thatsachen diese Theorie widerlegt war, da kam Mr. Hutcheon mit einem anderen Einwurf, in dem er sagte, die Verluste seien bei unserer Methode zu gross, weil das Blut, wenn injicirt, zu infectiös wirke.

Als auch dieser Einwand widerlegt war, da kam Mr. Hutcheon mit einem neuen, der das gerade Gegentheil von dem vorigen enthielt. Er sagte, dass, obgleich der grösste Theil der Rinder nach Simultaninjectionen erkranke und so „gesalzen“ werde, doch ein Theil nicht erkranke.

Der Kundige sieht sofort, dass alle diese Differenzen dadurch erklärt sind, dass wir zu jener Zeit nicht wie jetzt, über einen genügenden Vorrat geprüften Serums verfügten, so dass Mr. Hutcheon mit Serum arbeiten musste, das wir nur bezüglich seiner Titres geschätzt hatten.

Um aber den letzten Einwand zu vermeiden, injicirte Mr. Hutcheon, wie wir es auch versucht hatten, zuerst das virulente Blut und 48 Stunden später das Serum.

Wie wir aus seinen Statistiken ersehen haben, ist die Erwartung von Mr. Hutcheon, dass bei dieser Versuchsanordnung alle Thiere reagieren würden, nicht in Erfüllung gegangen.

Die Nachtheile der Methode sind aber so wesentlich, wie wir schon früher festgestellt hatten, dass wir beschlossen, eine vergleichbare Versuchsreihe anzulegen, um zu zeigen, dass Hutcheon's Versuchsanordnung eine Vergeudung von Serum bedeutet.

Wenn nicht drei Mal so viel Serum als bei der Simultanmethode injicirt wird, 48 Stunden später als das virulente Blut, dann werden die Verluste gross sein. Wenn noch mehr injicirt wird, dann reagiren noch bedeutend weniger Thiere, als bei der Simultanmethode. Die zweite Seruminjection müssen wir nach unseren Beobachtungen überhaupt als zwecklos bezeichnen.

Da die Gewinnung des Serums aber mit erheblichen Kosten verbunden ist, so muss die Menge des Serums so viel als möglich verringert werden.

Zur Illustration des Gesagten diene der folgende Versuch:

Bei sämmtlichen Thieren wurde nach der Formel $W = \frac{G^2 . L}{0.142}$ das Gewicht genau ermittelt.

Zu den Simultaninjectionen hatten wir so viel Vertrauen, dass wir die genaue Berechnung der Menge des Serums auf das Körpergewicht ausser Acht liessen. Aber bei den Thieren, welche das Serum 24 bezw. 48 Stunden später als das virulente Blut erhielten, wurde die Dosis genau auf das Körpergewicht bezogen.

Die folgenden beiden Tabellen zeigen die Versuchsanordnung und die Ergebnisse des Versuches.

Es wurden bei dem ersten der drei Versuche (4. Februar) 12 Thiere mit 1 ccm virulenten Blutes injicirt. 2 Thiere erhielten dann gleichzeitig 15 ccm Serum, 2 andere 20 ccm. Am folgenden Tage, den 5. Februar, wurden 4 weitere von diesen 12 Thieren mit demselben Serum, wie die ersten 4 Thiere, injicirt, aber mit doppelt so grossen Dosen, so dass 2 Rinder 30 ccm, 2 40 ccm erhielten. Endlich am 6. Februar, also 48 Stunden nach dem virulenten Blut, wurden die übrig gebliebenen 4 Thiere einer Versuchsreihe mit je 30 bezw. 40 ccm derselben Serumprobe injicirt. Sämmtliche 12 Thiere erkrankten an Rinderpest, genasen aber.

Am 14. Februar wurde eine zweite Versuchsreihe mit 12 Thieren angelegt, die sämmtlich 1 ccm virulenten Blutes subcutan bekamen.

4 von den Thieren erhielten dann gleichzeitig Serum, und zwar dieselbe Sorte wie beim ersten Versuch, nur geringere Dosen, da das Serum sich als sehr wirksam dort erwiesen hatte, nämlich 10 bezw. 15 ccm. 1 Thier starb.

Am 15. Februar, also 24 Stunden später, wurden 4 Thiere mit der $1\frac{1}{2}$ fachen Dosis injicirt, d. i. 15 bezw. 20.5 ccm. 2 Thiere starben.

Am 16. Februar, 48 Stunden nach dem virulenten Blut, erhielten die übrigen 4 Thiere gleichsfalls die $1\frac{1}{2}$ fache Dosis. 2 genasen, 2 starben.

Am 10., 11. und 12. März wurde ein dritter Versuch ausgeführt, indem mit demselben Serum 4 Thiere gleichzeitig mit, vier 24 Stunden und drei 60 Stunden nach dem virulenten Blut injicirt wurden. Diesmal erhielten alle Thiere, auf das Körpergewicht berechnet, die gleiche Serumdosis. Der Erfolg ist aus den Tabellen zu ersehen.

Obgleich der Versuch nur 35 Thiere umfasst, so genügt er doch zu einer Vergleichung der verschiedenen Versuchsanordnungen.

Simultanmethode: 170 ccm wurden bei 12 Thieren gebraucht. Durchschnittsdose: 14 ccm. 83 Procent der Thiere genasen.



Tabelle VI.

Datum	Dosis in ccm	Virulentes Blut und Serum. Gleichzeitig		Genesungen in Procenten	Dosis in ccm	Virulentes Blut, 24 Stunden vor Serum		Genesungen in Procenten	Dosis in ccm	Virulentes Blut, 48 Stunden vor Serum		Genesungen in Procenten
		Zahl	Gestorben			Zahl	Gestorben			Zahl	Gestorben	
4. Februar	15	2	0	100·0	2×15	2	0	100·0	2×15	2	0	100·0
	20	2	0	100·0	2×20	1	0	100·0	2×20	2	0	100·0
		4	0	100·0		3	0	100·0		4	0	100·0
14. Februar	10	2	0	100·0	1·5×10	2	1	50·0	1·5×10	2	1	50·0
	15	2	1	50·0	1·5×15	2	1	50·0	1·5×10	2	1	50·0
		4	1	75·0		4	2	50·0		4	2	50·0
14. März	10	2	1	50·0	10	2	1	50·0	10	2	1	50·0
	15	2	0	100·0	15	2	0	100·0	15	1	1	0·0
		4	1	75·0		4	1	75·2		3	2	33·3
Gesammtsumme		12	2	83·3		11	3	72·72		11	4	63·63

Tabelle VII.

Datum		Gewicht der Thiere in Pfund	Menge des injicirten Serums in ccm	Menge des Serums für je 600 Pfund in ccm
4. Februar	Serum und Blut gleichzeitig injicirt	861	15	10·3
		568	15	10·4
		874	20	13·7
		877	20	13·7
	Serum 24 Stunden nach virulentem Blut injicirt	477	24	30
		698	35	30
		670	45	40
	Serum 48 Stunden nach virulentem Blut injicirt	603	30	30
		723	36	30
		708	50	40
		694	49	49
14. Februar	Serum und Blut gleichzeitig injicirt	674	10	8·8
		674	10	8·8
		691	15	12·6
		712	15	12·8
	Serum 24 Stunden nach virulentem Blut injicirt	595	15	15
		596	15	15
		522	19	22·5
		530	20	22·5
	Serum 48 Stunden nach virulentem Blut injicirt	665	46	15
		754	18	15
		611	23	22·5
		655	25	22·5
10. März	Serum und Blut gleichzeitig injicirt	602	10	10
		579	10	10
		579	15	17
		591	15	15
	Serum 24 Stunden später als virulentes Blut injicirt	609	10	10
		604	10	10
		555	14	15
		604	15	15
	Serum 48 Stunden später als virulentes Blut injicirt	818	13·5	10
		641	11	10
		807	20	15

Serum 24 Stunden nach dem virulenten Blute: 222 ^{ccm} wurden bei 11 Thieren gebraucht. Durchschnittsdose 26 ^{ccm}. 64 Procent der Thiere genasen.

Serum 48 Stunden nach dem virulenten Blute: 291 ^{ccm} wurden bei 11 Thieren gebraucht. Durchschnittsdose: 26 ^{ccm}. 64 Procent der Thiere genasen.

Es geht daraus hervor, dass bei einer Methode, wo das Serum 24 oder 48 Stunden nach dem virulenten Blute gegeben wird, die dreifache Serummenge nöthig ist, wie bei der Simultanmethode, um gleich zuverlässige Resultate zu erhalten.

Dazu kommt, dass man die Thiere mehrmals fesseln muss.

Anlage Nr. 13.

Die Herstellung des Serums.

Dieser Punkt ist einer der wichtigsten für den ganzen Serumprocess.

Wenn Jemand das hochwerthige, titrirte Serum, wie wir es jetzt liefern, in die Hand bekommt, dann kann er, wenn er die dem Serum beigegebenen Instructionen genau befolgt, keinen Fehler machen, er muss Erfolg haben.

Die Herstellung des Serums erfordert indessen nicht nur Erfahrung und Geduld, sondern auch viel Mühe und Vorsichtsmassregeln.

Das erste Rinderpestserum, welches überhaupt gebraucht wurde, stammte von einem Thiere, welches eine schwere Rinderpestattacke überstanden hatte, von dem Ochsen „Kafir“. Aber es erwies sich als zu schwach für praktische Immunisirungsversuche und daher nicht brauchbar.

Auch alle Versuche, sei es zur Immunisirung, sei es zur Heilung, mit Serum von Thieren, die die Krankheit überstanden hatten, selbst in schwerer Form (hier zu Lande gesalzene Thiere genannt), schlugen fehl, so dass wir nach Mitteln suchen mussten, um die Immunität der Serum liefernden Thiere zu erhöhen. Wir wählten nach Ehrlich's classischem Vorbilde das Princip der steigenden Dosen.

Zu diesem Zwecke injicirten wir den Thieren virulentes Blut in steigenden Dosen, beginnend mit 10 ^{ccm}. Anfangs überschritten wir nicht 100 ^{ccm}, nach einiger Zeit, als wir die Wirksamkeit des Serums nicht genügend erhöht sahen, gingen wir aber zur Injection von sehr grossen Dosen bis zu 4000 ^{ccm} über.

Fraglos hat schon die Injection von 100 ^{ccm} virulenten Blutes, vor Allem, wenn nach ihr eine gute Reaction des Thierkörpers folgt, eine Erhöhung der Wirksamkeit des Serums zur Folge. Das haben R. Koch's Experimente und die Methode von Danysz und Bordet bewiesen.



Dass durch fortgesetzte Steigerung der Zufuhr virulenten Blutes in die Immunthiere eine erhebliche Steigerung der Wirksamkeit des Serums stattfindet, lässt sich leicht und immer wieder durch das Experiment beweisen. Bei Prüfung des Serums mit der Simultanmethode zeigt sich, dass der Titre des Serums von hochimmunisirten Thieren (nach Injection von 3000 oder 4000 ccm virulenten Blutes) sich zu demjenigen der einfach „gesalzenen Thiere“[1] d. h. der Thiere, welche nur die Krankheit überstanden haben, verhält wie 20 : 1 · 10 ccm Serum hochgetriebener Thiere leisten dasselbe wie 100 oder 200 ccm Serum von einfach gesalzenen Rindern.

Die Erfahrung hat uns ferner gezeigt, dass diejenigen Thiere, welche einen sehr schweren Anfall der Pest überstanden haben, keineswegs die geeignetsten Thiere sind, um Serum zu liefern. Solche Thiere haben in ihrer Constitution so viel Schaden durch die Krankheit erlitten, dass sie meist in schlechtem Ernährungszustande verbleiben und oft der Injection grösserer Mengen virulenten Blutes (500—1000 ccm) unter Marasmus erliegen.

Bei der Hochtreibung von Thieren zum Zwecke der Gewinnung von anderen Sera, z. B. Diphtherieserum, hat man ähnliche Erfahrungen gemacht.

Das minderwerthige Serum, welches wir im October vorigen Jahres gewannen, war sämmtlich von Thieren in solcher Verfassung gewonnen.

Es hat sich herausgestellt, dass die geeignetsten Thiere für die Gewinnung des Serums kräftige Zuchtochsen sind, welche mit Hülfe der Simultanmethode „gesalzen“ sind. Wenn die Temperaturcurve eines solchen Thieres ein Fieber von 5 tägiger Dauer zeigt, ohne nachfolgendes Secundärfieber in Folge von Mischinfection Seitens des Darmes, dann betrachten wir ein solches Thier besonders geeignet für Serumgewinnung.

Die Hochtreibung eines solches Thieres geschieht nun in folgender Weise:

Nachdem die Rinderpestattacke völlig abgelaufen und das Fieber vorbei ist, werden dem Thiere zunächst 100 ccm vollvirulenten Blutes injicirt. Es folgt dieser Injection meistens eine Fieberreaction von mehrtägiger Dauer. Sobald dieselbe abgelaufen ist, werden 200 ccm injicirt, dann, nachdem jedes Mal der Ablauf der Reaction abgewartet ist, 500, 1000, 1500, 2000, 3000, 4000 ccm.

Sobald das Thier 1000 ccm erhalten hat, wird es, wenn es gute Reactionen gezeigt hatte, zum ersten Mal zur Ader gelassen, und zwar in je drei aufeinander folgenden Wochen je einmal zu 4500 ccm. Dann wird es mit einer grösseren Dosis virulenten Blutes injicirt und abermals drei Mal zur Ader gelassen zum Zwecke der Serumgewinnung u. s. w.

[1] Dieser Ausdruck „gesalzen“, welcher im Vorhergehenden und Folgenden vielfach gebraucht ist, ist nach dem in Süd-Afrika in die Schriftsprache aufgenommenen Worte „salted“ gebildet und seiner Einfachheit und Eindeutigkeit wegen wohl auch hier zulässig.



Wenn ein Rind keine guten Reactionen nach den Einspritzungen des virulenten Blutes zeigt, dann wird es nicht zur Serumgewinnung benutzt, sondern verkauft.

Auf die mikroskopische Untersuchung des zur Hochtreibung der Immunität zu benutzenden virulenten Blutes ist grosse Sorgfalt zu verwenden. Es ist selbstverständlich, dass es frei von irgend welchen Bakterien sein muss. Diese sind ja leicht aufzufinden, nicht so dagegen die Parasiten des Texasfiebers (red-water) und der Rindermalaria (Febris malariaformis). Das Pycoroma bigeminum und die Plasmodien der Rindermalaria lassen sich in der Mehrzahl der Fälle bei sorgfältiger Färbung und Durchmusterung der Präparate finden. Zuweilen entgehen sie allerdings in infectiösem Blute der Wahrnehmung. Eine dritte Krankheit, welche durch die Blutinjectionen häufig auf der Station übertragen wurde, ist eine besondere Art von Oedema, dessen mikrobielle Ursache wir bis jetzt nicht haben auffinden können.

Ausser der mikroskopischen Blutuntersuchung nehmen wir eine sorgfältige Durchmusterung der Temperaturcurven und Obduction der zum Zwecke reichlicher Blutgewinnung zu Tode gebluteten kranken Thiere vor, und nur dann, wenn auch hier nichts Verdächtiges gefunden wird, benutzen wir das virulente Blut zur Injection der Immunisirungsthiere.

Trotz aller dieser Vorsichtsmassregeln haben wir verschiedentlich immune Thiere an Texasfieber, Febris malarioformis und dem Oedema verloren.

Wenn die Immunthiere an einer dieser Krankheiten erkranken und genesen, dann ist das Serum nicht unbrauchbar für die Rinderpestimmunisirung, falls das Thier gute Reactionen durchmacht. Denn da das Serum mit Carbol versetzt wird, so können jene Krankheitskeime, selbst wenn sie noch im Blute enthalten sein sollten, nicht damit übertragen werden. Das Blut ohne Carbolzusatz hat, wie schon früher gezeigt, häufig zur Verbreitung von Blutkrankheiten geführt, und diese Thatsache ist mit einer von den Gründen, weshalb wir so scharf gegen die Verwendung defibrinirten Immunblutes uns ausgesprochen haben.

Die Gewinnung des Serums aus dem Blute der immunen Thiere geschah bisher durch Gerinnenlassen des steril in grossen Flaschen aufgefangenen Blutes. Das Serum scheidet sich dann im Laufe der nächsten 24 bis 48 Stunden von dem Blutkuchen ab und wird durch ein seitliches, mit Watte verschlossenes Ansatzrohr dieser Flaschen abgegossen. Die Menge des so gewonnenen Serums betrug indessen im Durchschnitt nicht mehr als 33 Procent Volumprocente vom defibrinirten Gesammtblut. Die thatsächlich im defibrinirten Blut enthaltene Serummenge beträgt aber fast 90 Procent, da die rothen Blutkörperchen kaum mehr als 10 Volum-

procente einnehmen. Um nun mehr Serum zu gewinnen, haben wir eine grosse Centrifuge, von F. und M. Lautenschläger, Berlin, construirt, benutzt, mit Hülfe deren wir aus dem defibrinirten Immunblut die Blutkörperchen ausschleudern. Die Menge des auf diese Weise aus je 1000 ccm Immunblut erhaltenen Serums beträgt durchschnittlich 750 bis 800 ccm d. h. 75 bis 80 Procent, also fast doppelt so viel, als durch Gerinnung gewonnen werden kann. Die Maschine ist so construirt worden, dass sie 10 Liter Blut fasst, zu dessen Centrifugirung bei einer Tourenzahl von 3000 25 Minuten genügen. Der Betrieb der Maschine erfolgt mittels Electromotors.

Anlage Nr. 14.

Die Werthbestimmung (Titrirung) des Serums.

Wie nothwendig die Titrirung des Rinderpestserums ist, geht schon aus Tabelle IV und V hervor. Aber noch augenfälliger zeigt es Tabelle VIII.

Tabelle VIII.

Datum	Aug. 28		30	Sept. 2		8		Octob. 1	2		4		5	Nov. 9		11		12	
Dosis in ccm	10	20	20	5	10	10	20	20	10	20	20	20	20	20	30	25	30	20	30
Genesungen in Procentzahlen 0–10				5 ■	10 ■														
10–20						10													
20–30						■	20	20					20						
30–40							■	■	10				■						
40–50									■	20									
50–60										■	20			20		25	30	20	30
60–70			20								■			■		■	■	■	■
70–80			■												30				
80–90	10	20										20			■				
90–100	■	■										■							

Datum	26		Dez. 7	15		23		Jan. 5	20		Febr. 4		14		März 10		Apr. 7		12	
Dosis in ccm	30	40	40	30	40	20	30	20	10	15	10	15	15	10	10	15	15	20	15	20
Genesungen in Procentzahlen 0–10																				
10–20																				
20–30																				
30–40																				
40–50									10											
50–60									■				15		10					
60–70										15			■		■					
70–80										■										
80–90	30	40	40	30	40	20	30	20			10	15		10		15	15	20	15	20
90–100	■	■	■	■	■	■	■	■			■	■		■		■	■	■	■	■

Auf der linken Seite befinden sich die Procentzahlen der Genesungen. Schwarze Felder unter den Daten zeigen diese Zahlen an. Die Zahlen über den Feldern geben die Dosen des Serums in Cubikcentimetern an.

Es geht aus der Tabelle hervor, dass das zuerst gewonnene Serum sehr hochwerthig war. Dosen von 10 ccm bei der Simultanmethode waren wirksam.

Das etwas später gewonnene Serum war nicht ganz so hochwerthig. Bei Dosen von 20 ccm (Simultanmethode) betrugen die Verluste 20 bis 30 Procent.

Im September ging die Werthigkeit des Serums mehr und mehr zurück, stieg dann in der Folgezeit wieder und am 4. October hatten wir wieder ebenso hochwerthiges Serum in Händen, wie im August. Das



am 5. October geprüfte Serum war wieder minderwerthig. Seit dieser Zeit nahm dann, in Folge Anwachsens der Zahl geeigneter Immunisirungsthiere, die Qualität des Serums beständig zu und mit dem Beginne dieses Jahres ist der Titre des Serums sich annähernd gleich geblieben.

Wir haben bereits die Gründe auseinandergesetzt, weshalb wir im October so minderwerthiges Serum erhielten. Es war gewonnen von Thieren, welche nach dem Ueberstehen der Krankheit sehr heruntergekommen waren. Seit wir mit der Immunisirung solcher Thiere zum Zwecke der Serumgewinnung aufgehört haben, haben wir ein im Werthe annähernd gleiches Serum erhalten. Vor der Titrirung nahmen wir aber, um die Unterschiede des Serumtitres von verschiedenen Individuen nach Möglichkeit auszugleichen, eine Mischung des Serums von 60 bis 80 bis 100 Thieren vor.

Das Serum wird dann in folgender Weise auf seinen Gehalt an Immunstoffen geprüft.

10 oder 12 Thiere werden gemessen in früher besprochener Weise. Nachdem darauf ihre Gewichte ermittelt sind, wird jedes Thier mit 1 ccm virulenten Blutes injicirt und zu gleicher Zeit

3 Thiere mit Dosen des Serums entsprechend 15 ccm für je 300 kg lebendes Gewicht;
3 Thiere mit Dosen des Serums entsprechend 20 ccm für je 300 kg lebendes Gewicht;
3 Thiere mit Dosen des Serums entsprechend 25 ccm für je 300 kg lebendes Gewicht;
3 Thiere mit Dosen des Serums entsprechend 30 ccm für je 300 kg lebendes Gewicht.

Wir haben gefunden, dass eine Titrirung mit diesen Dosen völlig genügend ist, um über die Werthigkeit des Serums Aufschluss zu geben. Der Titre des Serums geht aus dem Erfolg des Versuches dann hervor. Wenn z. B. die Thiere, welche 15 ccm erhielten, alle starben, oder auch nur zwei davon, dann giebt, falls die Thiere, welche 20 ccm erhielten, mit dem Leben davonkommen, 20 den Titre des Serums an. Denn in diesem Falle haben, wie die Erfahrung gezeigt hat, die mit 25 ccm-Dosen injicirten Thiere nur leichte Attacken von Rinderpest, während die Thiere der vierten Serie (30 ccm) häufig gar nicht erkranken. Man wird sich hieraus eine Vorstellung des Prüfungsmodus machen können, der, wie jeder Serumspecialist sieht, sich eng an Ehrlich's Titrirungsmethoden anschliesst.

Alle Einzelheiten eines solchen Serumversuches werden in das **Controlbuch** eingetragen. Es ist dort ersichtlich:



1. Datum, an dem der Aderlass der das Serum liefernden Thiere stattfand;

2. die Nummern der gebluteten Thiere;

3. das Resultat der Prüfung;

4. die Controlnummer.

Nachdem die Titrirung des Serums fertig ist, wird das Serum in braune Glasflaschen gefüllt, verkorkt, versiegelt und durch Stempeldruck mit der Controlnummer versehen. Es ist dann zur Versendung fertig.

Eine Flasche enthält 220 ccm.

Bei etwaigen Klagen über das Serum muss die Controlnummer stets angegeben werden. Es lassen sich dann leicht alle Einzelheiten mit Bezug auf dies Serum mit Hülfe des Controlbuches ausfindig machen.

Die zur Prüfung benutzten Thiere werden, soweit sie eine gute Rinderpestattacke hatten, zur Hochtreibung der Immunität benutzt.

Zur Conservirung des Serums haben wir sowohl Phenol wie Formalin versucht, haben indessen das Letztere wieder aufgegeben, da es nicht so sicher für lange Zeit präservirend wirkt wie das Phenol, welches in unserer Hand nie im Stiche gelassen hat. Der geringe Niederschlag, welcher bei Zufügung des Phenols zum Serum entsteht, beeinträchtigt die Wirksamkeit praktisch so gut wie gar nicht.

Es ist hier die Stelle, folgende Bemerkung des Mr. Hutcheon aus seinem amtlichen Jahresberichte zu citiren:

„Es kann indessen kaum noch ein Zweifel darüber bestehen, dass die von DDr. Turner und Kolle empfohlene Simultanmethode geradezu ideal vollkommen ist, vorausgesetzt, dass man den Titre des Serums und die Virulenz des Rinderpestblutes kennt."

Wir haben in diesem Capitel gezeigt, dass man den Titre des Serums genau bestimmen kann, und wir haben früher bewiesen, dass die Virulenz des infectiösen Blutes ausser Rechnung gelassen werden kann, weil die einmal ermittelte Serumdosis stets dieselbe bleibt, man mag Blut von dieser oder von jener Herkunft benutzen.

Mit jeder Flasche Serum wird folgende gedruckte Gebrauchsanweisung für die Benutzung des Immunserums mitgeschickt:

Rinderpestimpfung.

Allgemeine Information.

1. Mit Bezug auf infectionsfreie Herden, die nicht vorher mit Galle inoculirt sind, möge bemerkt werden, dass die Injection von Serum allein keine dauernde Immunität verleiht. Es ist deshalb nothwendig,

die Rinder mit Rinderpest zu inficiren. Am besten geschieht das, wenn den Thieren virulentes Rinderpestblut auf der einen Körperseite und Serum auf der anderen Seite injicirt wird. Dadurch erkranken die Thiere an Rinderpest, genesen aber.

2. Die Benutzung des Serums in Herden, die früher mit Galle injicirt sind.

Es ist nicht rathsam, Herden, die einige Monate vorher mit Galle injicirt sind, mit virulentem Blute allein zu injiciren. Eine Anzahl der Thiere erkrankt schwer in Folge dessen, und die Verluste können grosse sein, während eine Anzahl Thiere der Impfung völlig widersteht. Solche Thiere würden auch bei Anwendung der Simultanmethode nicht erkranken. Sicherlich erkrankt auch darnach eine Anzahl der Thiere, aber viele (und man kann ihre Zahl nicht im Voraus wissen) zeigen keine Reaction, weil sie noch immun sind. Die Simultanmethode ist in diesen Fällen deshalb nicht geeignet, um die Thiere zu „salzen". In diesen Fällen empfiehlt es sich für den Viehbesitzer, eine genügende Menge von Serum stets zur Hand zu haben und Thiere, sobald sie augenfällig erkranken oder hohe Temperatur zeigen, mit einer grossen Serumdosis zu injiciren.

Sind Herden längere Zeit als 6 Monate zuvor mit Galle injicirt, dann sind sie zu betrachten wie Herden, die überhaupt noch nicht immunisirt sind.

Anweisung zur Gewinnung des defibrinirten virulenten Blutes.
(Für den Farmer.)

Nimm einen reinen emaillirten Topf von Eisen, wasche ihn sorgfältig, fülle ihn mit Wasser und lasse das Wasser eine Viertelstunde lang kochen. Nimm ein eisernes Seil, drehe das eine Ende auf und koche dieses Ding mit aus in dem Wasser.

Fessele das kranke Thier, entferne die Haare am Halse in der Gegend der grossen Vene, wasche die Stelle sorgfältig und reibe sie dann mit einem Desinfectionsmittel oder einer 5 procent. Lösung von Phenol in Wasser ab. Entferne das Wasser aus dem Eimer, blute das Thier und lasse das Blut in den Eimer laufen und dann schlage das Blut mit dem Eisendraht, bis dieser mit dem weissen Faserstoff ganz bedeckt ist. Das dauert etwa eine Viertelstunde.

Lass dann das defibrinirte Blut durch ein Mousselintuch, das wohl ausgekocht ist, laufen und injicire es.

Anweisung über die Menge des zu injicirenden Serums (Dosis).

1. Inficirte oder kranke Thiere (gleichgültig ob früher mit Galle injicirt oder nicht) injicire zu Beginn der Krankheit mit 40 bis 200 ^{ccm}, je nach der Grösse der Thiere. Je früher ein Thier injicirt wird, um so besser ist es. Es ist zwecklos, ein Thier in den späteren Stadien der Pest zu injiciren, d. i., wenn profuser Durchfall, Athemnoth oder grosse Schwäche sich eingestellt haben.

2. Gesunden Thieren, welche vorher weder mit Galle noch mit anderen Mitteln injicirt waren, spritze Serum auf der einen Körperseite und virulentes Blut (1 ^{ccm}) auf der anderen unter die Haut. Die Dosen sind:



a) Für Kälber . . . . 8 bis 12 ccm
b) Für Durchschnittsthiere (ungefähr 300 kg Gewicht) 15 „
c) Für grosse Thiere . . . . 20 „
d) Für sehr grosse Thiere . . . . 25 „

3. Milchkühe können für die Dauer einiger Monate gegen Rinderpest durch Injection grosser Dosen des Serums allein (100 bis 150 ccm) geschützt werden. Die Milch wird weder in Beschaffenheit noch Menge durch das Serum irgendwie beeinflusst.

Experimentalstation Kimberley.

(NB. Die Dosen des Serums, welche nicht constant sind, sondern jedes Mal durch die Titrirung ermittelt werden, werden in das gedruckte Formular mit der Hand bei der Versendung eingetragen.)

In folgenden Figuren, welche die Temperaturcurven der Thiere Nr. 1392, 1393, 1394 und 1395 darstellen, geben wir einige Beispiele für den Ablauf der Krankheit nach Simultaninjectionen.

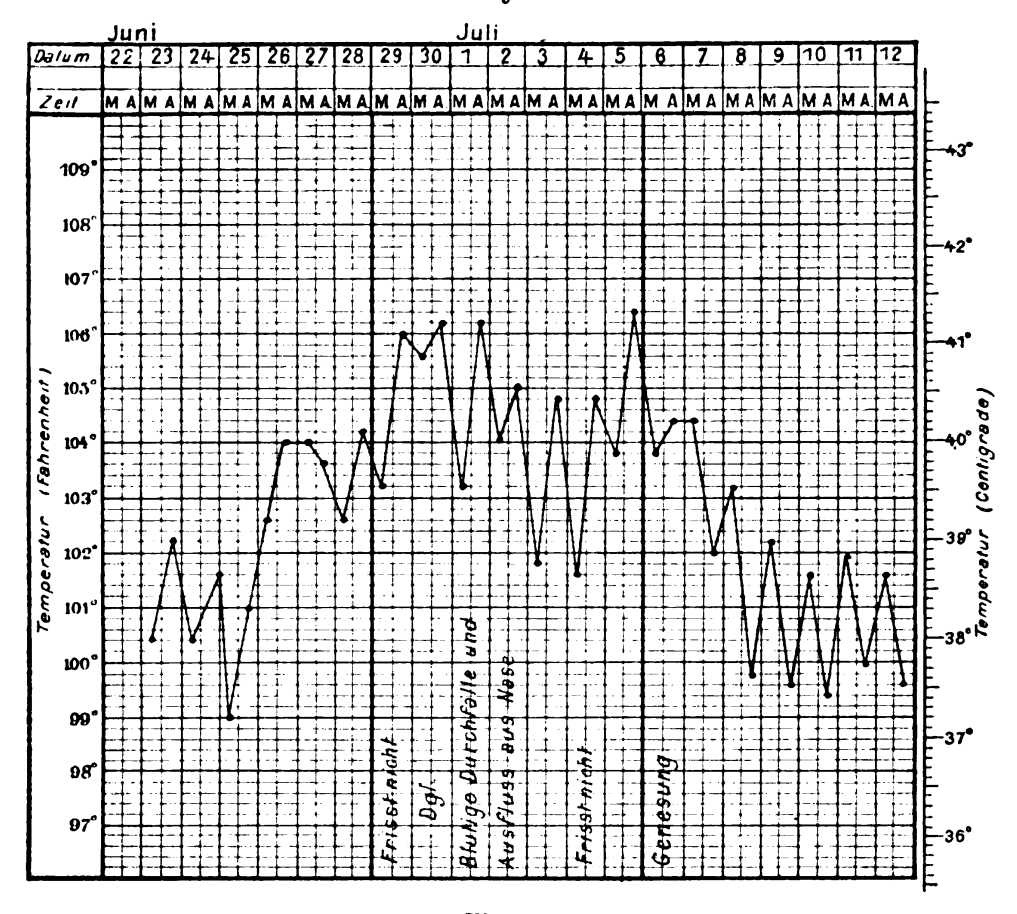


Fig. 5.

Nr. 1392. Injicirt am 22. VI. 1898 mit 1 ccm Rinderpestblut Nr. 1371 und gleichzeitig mit 32 ccm Serum Nr. 16 (= 15 ccm pro 300 kg). Gewicht 630 kg.



Anlage Nr. 15.

Impfungen mit Serum auf der Caphalbinsel, ausgeführt von Mr. Hutcheon.

Der Chef des Veterinärwesens der Capcolonie, Mr. Hutcheon, telegraphirte am 30. December 1897 an Dr. Kolle nach Kimberley mit der Bitte, ihm so viel Serum wie nur irgend möglich zu senden, da „er unser

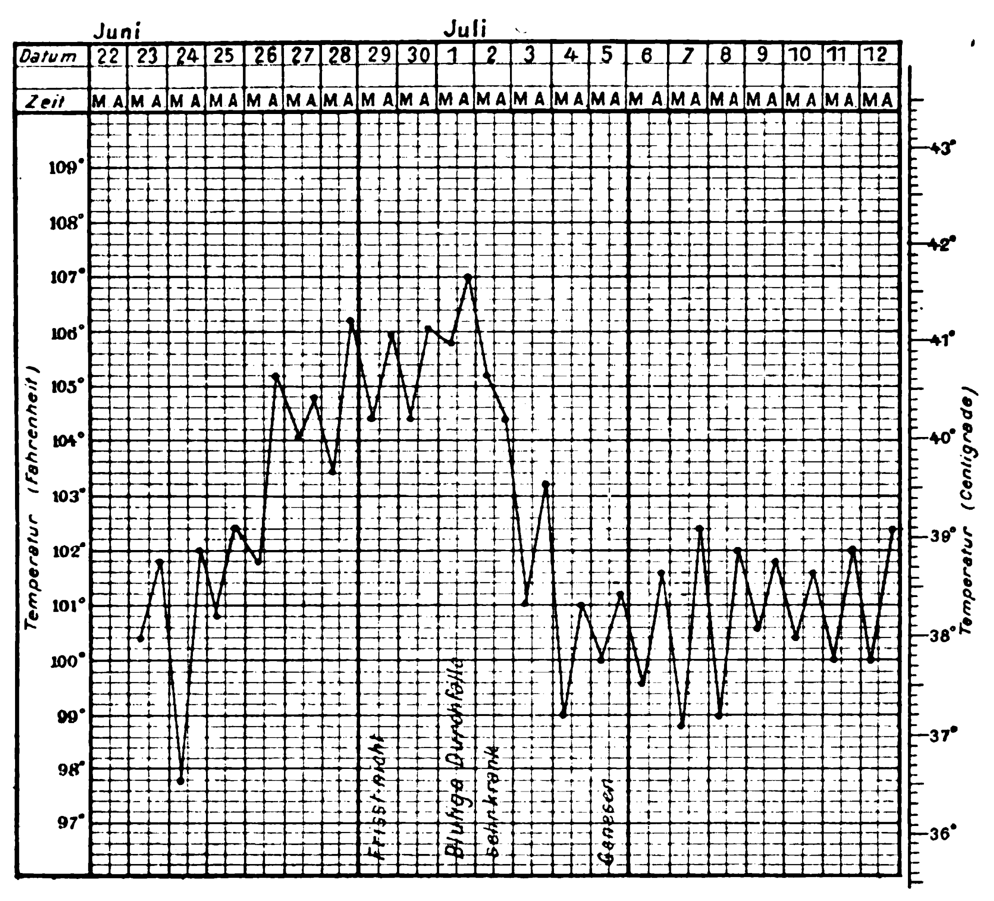


Fig. 6.

Nr. 1393. Injicirt am 22. VI. 1898 mit 1 ccm Rinderpestblut Nr. 1371 und gleichzeitig mit 21 ccm Serum Nr. 16 (= 15 ccm pro 300 kg). Gewicht 412 kg.

Serum für eine Zeit lang benutzen möchte, ohne während dieser Zeit Serum von einer anderen Serumerzeugungsstation zu verwenden.“ Er fügte hinzu: „Ich werde Ihre Anweisungen so sorgfältig wie denkbar ausführen.“ Nicht weniger als 320 Liter Serum wurden in Folge dessen an Mr. Hutcheon nach Capstadt gesandt, und am 2. Februar 1898 baten wir unsererseits um Mittheilung der mit unserem Serum erhaltenen Resultate.



Nach vieler Correspondenz, welche die Thatsache aufdeckte, dass kein Versuch, unsere Rathschläge zu befolgen, oder unser Serum allein zu verwenden, gemacht war, wurde uns endlich das Versprechen gegeben, „es würden uns Statistiken geliefert werden, die unseren Zwecken entsprechend hergestellt wären.“ Als wir dann die Annahme „zurecht gemachter Statistiken“ verweigerten und darauf bestanden, dass alle in des Mr. Hutcheon Besitz befindlichen Zahlen auch uns zugänglich gemacht

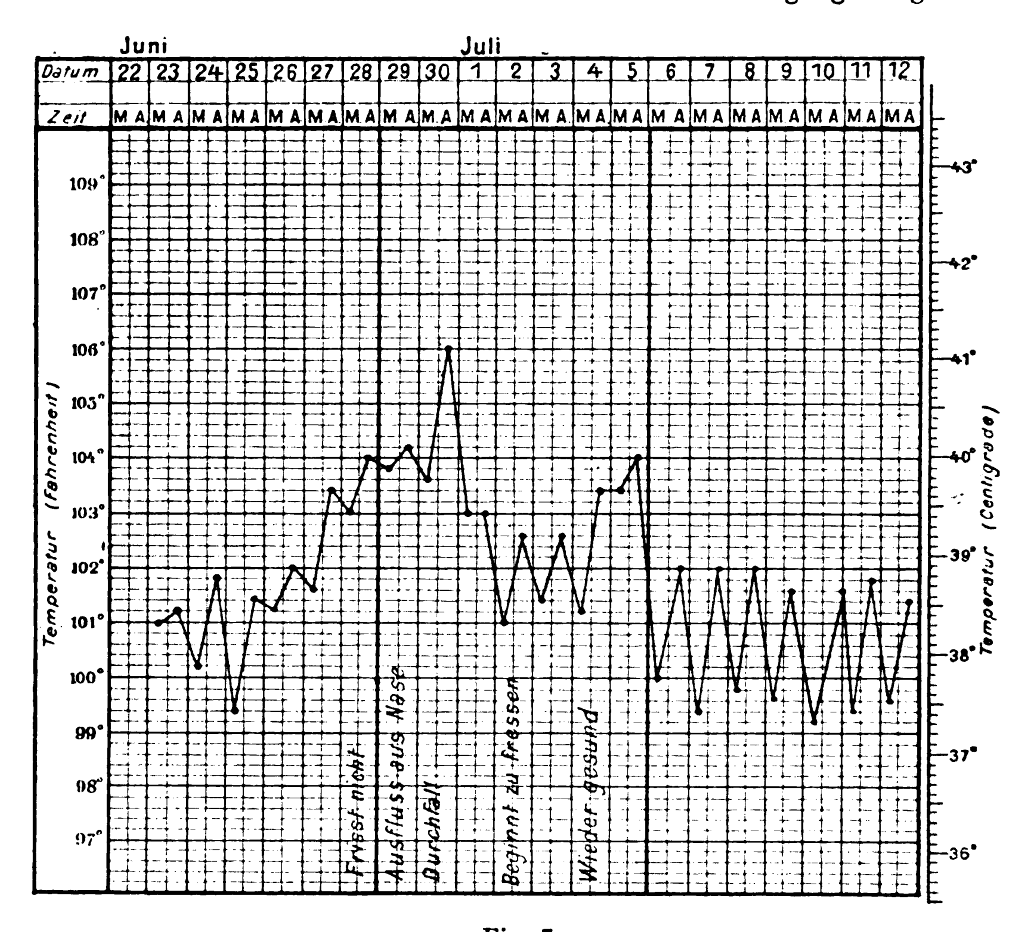


Fig. 7.

Nr. 1394. Injicirt am 22. VI. 1898 mit 1 ccm Rinderpestblut Nr. 1371 und gleichzeitig mit 27 ccm Serum Nr. 16 (= 20 ccm pro 300 kg). Gewicht 400 kg.

würden, so weit sie die Verwendung des von uns hergestellten Rinderpestserums betrafen, erging an uns die Mittheilung, dass wir gar keine Information erhalten würden. Ferner eröffnete uns Mr. Hutcheon, dass er aufhören würde, Serum von der Kimberley-Experimental-Station zu benutzen, obgleich er uns gleichzeitig die erfreuliche Mittheilung machte, „dass unser Serum das beste und zuverlässigste sei, das man erhalten könne.“

Einige Zeit später wurden uns trotzdem statistische Aufzeichnungen zugesandt, welche 1044 Thiere umfassten mit 93 Todesfällen, d. i. ein Verlust von ungefähr 9 Procent. 1044 ist etwas sehr viel weniger als 8000, eine Zahl von Thieren, für deren Immunisirung das Serum nach unseren Versuchen mindestens gereicht hätte.

Diese Aufzeichnungen waren von einem kurzen Brief begleitet, in dem es hiess: „ein und dasselbe System der Immunisirung sei in jeder einzelnen Herde seit dem Datum angewandt worden, seit dem dies System

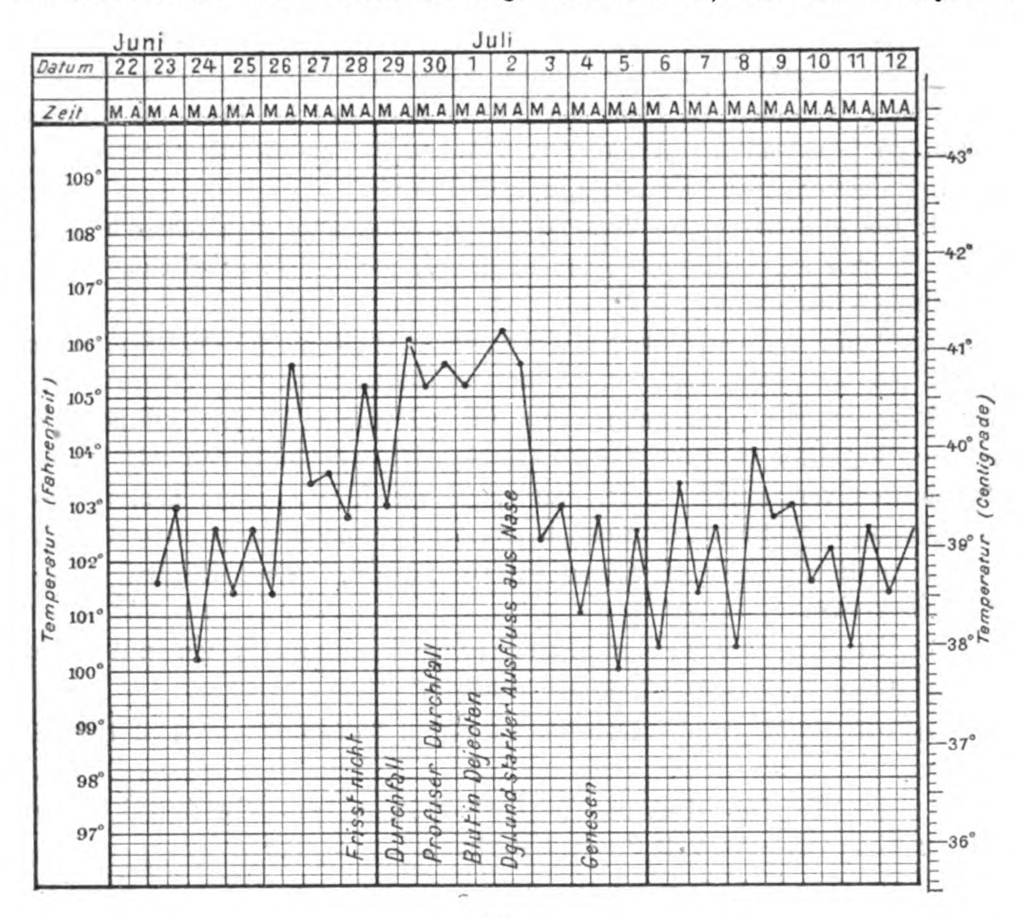


Fig. 8.

Nr. 1395. Injicirt am 22. VI. 1898 mit 1 ccm Rinderpestblut Nr. 1371 und gleichzeitig mit 43 ccm Serum Nr. 16 (= 20 ccm pro 300 kg). Gewicht 640 kg.

eingeführt sei, nachdem andere Methoden ziemlich starke Verluste an Thieren zur Folge gehabt hätten.“

Sehr klar sind diese Worte gerade nicht, weder bezüglich der angewandten Methoden noch des Datums. Auch aus den Statistiken selbst ist nichts in dieser Hinsicht zu entnehmen. Wir nehmen deshalb an, dass die beiden erwähnten Methoden die Simultan-Methode einerseits und



die Modification andererseits sind, bei der das Serum 24 Stunden später als das virulente Blut injicirt ist.

Dagegen geht aus den Statistiken hervor:

1. Unsere Vorschriften über Anwendungsweise und Dosen des Serums sind nicht eingehalten worden.

2. Mehrfach ist zuerst Serum, das in Grahamstown von Dr. Edington erzeugt und offenbar minderwerthig war, verwendet worden, und dann bei einer zweiten Seruminjection, die wegen der Minderwerthigkeit jenes Serums häufig geboten war, unser Serum verwandt worden.

3. Die Simultan-Methode ist fast stets in schwer inficirten Herden, in denen z. B. schon 10 Proc. der Thiere todt und 25 Proc. im Sterben waren, zur Anwendung gekommen, während die andere Modification fast nur in infectionsfreien Herden durchgeführt ist.

4. Die Statistiken des Mr. Hutcheon sind, auch abgesehen hiervon, werthlos, weil sie ausgewählte Zahlen geben, nicht alle erhaltenen Resultate einfach registriren.

5. Wenn in den Herden, in welchen die Simultan-Methode angewandt ist, die Zahl der todten und sterbend injicirten Thiere ausser Rechnung gelassen wird, dann sind die mit dieser unserer Methode erhaltenen Resultate ausgezeichnet und, obgleich weniger Serum als bei der Modification verbraucht wurde, besser, als bei dieser. Dazu kommt noch die veränderte Bedingung, unter denen die Methoden angewandt wurden: Inficirte Herden bei der Simultan-Methode, reine Herden bei der Modification.

6. Bei Verbesserung der Zahlen nach den unter 5. genannten Gesichtspunkten ergiebt sich folgende Statistik:

Simultan-Methode: 159 Thiere mit 2 Todesfällen = 1·2 Procent Verluste.

Serum 48 Stunden nach dem virulenten Blut: 841 Thiere mit 62 Todesfällen = 7·3 Procent Verluste.

Aus diesen Angaben, welche in dem Originalbericht ausführlich mit Belegen versehen und von Fall zu Fall bewiesen sind, sieht man, wie das Versprechen, welches man uns gegeben hat, gehalten worden ist.

Es ist von Mr. Hutcheon zugegeben worden, dass noch mehr Statistiken in seinem Besitz sind. Wenn diese zurückgehaltenen Zahlen schlechtere Resultate enthalten, als die veröffentlichten, dann sollte man sie nur zeigen, damit wir die Ursache des Fehlschlages feststellen können.

Wenn aber die veröffentlichten Zahlen eine angemessene Probe der übrigen darstellen, dann können wir beruhigt sein.



Anlage Nr. 16.

Haltbarkeit des Serums.

Die Frage, wie lange das Rinderpestserum seine volle oder annähernd volle Wirksamkeit behält, ist von grosser Wichtigkeit. Sie kann nur durch das Experiment beantwortet werden.

Von Bedeutung ist es dabei namentlich, zu erfahren, wie die Aufbewahrung des Serums unter äusseren ungünstigen Verhältnissen, wie sie z. B. während des Sommers auf den Farmen in diesem Lande vorherrschen, sich gestaltet. Wir verfügen über einige Beobachtungen in dieser Beziehung.

Am 25. September 1897 wurde eine beträchtliche Menge Serum an einen Farmer verkauft, in dessen Herden die Rinderpest ausgebrochen war. Nach einigen Monaten sandte dieser Farmer mir einige Flaschen Serum, die er nicht gebraucht hatte, zurück. Er schrieb uns, er habe die Flaschen in einem offenen Schrank aufbewahrt. Auch in Kimberley wurde dies Serum, nachdem es in unsere Hände gelangt war, in einem Schranke verwahrt, der täglich geöffnet wurde. Die hohen Sommertemperaturen konnten also auf das Serum wirken. Wir haben das absichtlich gethan, damit die Bedingungen die gleichen wären wie auf einer Farm.

Am 7. April wurde dies Serum von Neuem geprüft. Der ursprüngliche Titre war 20 ^{ccm} für ein Thier von 300 ^{kg} Gewicht bei Anwendung der Simultan-Methode. Da wir von vornherein eine beträchtliche Abnahme der Wirksamkeit erwarteten, so wurden bei der Titrirung Dosen von 20, 30 und 40 ^{ccm}, gleichzeitig mit 1 ^{ccm} virulenten Blutes gewählt. Nur das Thier, welches 20 ^{ccm} erhielt, hatte in Folge dessen eine sehr abgeschwächte Rinderpestattacke, während die mit höheren Dosen injicirten Thiere keine Reaction hatten. Am 20. April wurden die 3 Thiere mit je 100 ^{ccm} virulenten Blutes injicirt und erwiesen sich immun.

Daraus geht hervor, dass der Titre des Serums während der siebenmonatlichen Aufbewahrung nicht wesentlich verändert war.

An demselben Tage wurde eine am 8. October verwandte Serumprobe, welche unter ähnlichen Verhältnissen gehalten war, geprüft. Auch hier war der Erfolg der gleiche, dass sich eine Herabsetzung der Wirkungskraft des Serums nicht nachweisen liess.

Beide Serumproben, die mit 0·5 Procent Phenol versetzt waren, erwiesen sich steril.

Seit dieser Zeit haben wir verschiedentlich Berichte von Farmern erhalten, dass sie mit Erfolg bei Innehaltung der auf den Fläschchen vermerkten Dosis Serum benutzt haben, welches 3, 4, ja 9 Monate aufbewahrt



war. In einem Falle waren die das Serum enthaltenden Fläschchen in einem Gebäude aufbewahrt, wo die Temperatur häufig 47° C. erreichte.

Wir sind demnach berechtigt, zu behaupten, dass Rinderpestserum, mit Phenol versetzt und in braunen Fläschchen gut verkorkt, mindestens 9 Monate seine Wirksamkeit behält. Es muss natürlich einmal ein Zeitpunkt eintreten, wo diese deutliche Abnahme der Wirksamkeit nachweisbar wird, ähnlich, wie das nach Ehrlich's vorzüglichen Präcisionsarbeiten über die Werthbestimmung des Diphtherieserums bei letzterem der Fall ist. Wir hoffen, Gelegenheit zu haben, weitere Untersuchungen in dieser Richtung anzustellen.

Anlage Nr. 17.

Bemerkungen mehr wissenschaftlicher Natur.

Es ist sehr schwierig, wenn nicht unmöglich, eine scharfe Grenze zwischen Thatsachen, die mehr praktisches und solchen, die mehr wissenschaftliches Interesse haben, zu ziehen. Denn jede auf wissenschaftlichem Wege ermittelte Thatsache kann früher oder später von praktischer Bedeutung werden. Ohne deshalb zu kritisch in Bezug auf diese Trennung zu sein, haben wir im Vorhergehenden hauptsächlich diejenigen Beobachtungen mitgetheilt, deren Kenntniss für das Verständniss und die praktische Ausführung der Methode unerlässlich sind. Wir stellen auf den folgenden Seiten noch einige ausgewählte Beobachtungen zusammen, welche in Zukunft für die Bekämpfung der Seuche im Allgemeinen oder für Abänderungen unserer Methode unserer Ansicht nach von Wichtigkeit werden könnten.

Es ist überflüssig zu erwähnen, dass man einen Mikroben als Ursache der Rinderpest auch jetzt noch annehmen muss, trotzdem alle Versuche, ihn zu entdecken, vergeblich gewesen sind. Verschiedene Beobachter haben früher allerdings berichtet, dass sie den Rinderpestmikroben gesehen oder gezüchtet und mit den Reinculturen die Seuche erfolgreich auf gesunde Thiere übertragen haben. Da aber die verschiedenen beschriebenen Mikroorganismen beträchtliche Abweichungen unter einander zeigen, da ferner die Impfungsversuche mit den Reinculturen des angeblichen Rinderpesterregers in den Händen von sorgfältigen Beobachtern bei gesunden Thieren keine Rinderpest erzeugt haben, wenn die Versuchsbedingungen eine Spontaninfection der Rinder ausschlossen, so brauchen wir auf sie nicht weiter einzugehen.

Neuerdings schreibt uns M. Danysz vom Institut Pasteur, Paris, dass sein Landsmann, M. Nicolle, Constantinopel, mit einer besonderen



Färbemethode die Erreger der Rinderpest im Rinderpestblute demonstrirt habe: „Des plasmodies à contour irregulier un peu plus petites que les globules rouges et conténant des coccidies en plus ou moins grand nombre.“ M. Nicolle sagt, dass diese Organismen in sehr grosser Anzahl im Blute seien und er betrachte sie als die Erreger der Pest. Ueber Cultivirung dieses Mikroben ausserhalb des Thierkörpers wird nichts gesagt.

Da wir die Färbemethode, welche M. Nicolle angewandt hat, nicht kennen, so können wir kein endgültiges Urtheil über den Werth der Angaben fällen.

Jüngst haben drei russische Forscher, M. Nencki, N. Sieber und W. Wyznikiewicz, eine Arbeit[1] mit Photogrammen und Zeichnungen, welche den Rinderpestmikroben darstellen sollen, veröffentlicht.

Die Zeit, welche zwischen dem Empfange jener Arbeit und der Abfassung dieses Berichtes liegt, ist zu kurz, als dass es uns möglich gewesen wäre, alle Angaben der Autoren über Färbung und Cultivirung sowie die Experimente mit den Reinculturen des angeblichen Rinderpesterregers nachzuprüfen. Aber wir sind in der Lage, behaupten zu können, dass die Gebilde, welche jene Autoren im Rinderpestblute gesehen haben wollen, im Blute von Thieren, welche in Süd-Afrika an Rinderpest erkrankten oder starben, nicht vorhanden sind.

Entweder ist daher die Süd-Afrikanische Rinderpest eine Krankheit, die nicht identisch ist mit der Rinderpest in Russland, oder die Russen sind eines Irrthumes Opfer geworden.

Für die erstere Annahme liegen keine stichhaltigen Gründe vor, wohl aber für die letztere. Die von den Autoren angewandten Methoden der Isolirung, Züchtung u. s. w. können nicht für einen Moment der Kritik Stich halten.

Die in Photogrammen wiedergegebenen Mikroorganismen wurden in festen und flüssigen Nährmedien cultivirt. Die erfolgreichen Impfungen wurden mit Culturen gemacht, die nicht älter als die vierte Generation waren. Wenn man die überaus geringe Menge von Material in Rechnung zieht, das genügt, um die Rinderpest zu erzeugen, dann ist die Möglichkeit absolut nicht ausgeschlossen, dass das zur Aussaat benutzte Material von Generation zu Generation mitübertragen wurde. Verschiedene erfolgreiche Impfungen wurden auch mit Culturen zweiter Generation vorgenommen. Ferner ist bemerkenswerth, dass die Impfungen mit den Culturen oft negativ ausfielen.

---

[1] *Centralblatt für Bakteriologie u. s. w.* 31. März 1898.



Die Photogramme der Mikroben, wie sie in Präparaten frischen Blutes sich darbieten, nachdem durch Zusatz destillirten Wassers zum Blute die rothen Blutkörperchen zur Auflösung gebracht sind, sind nichts weniger als überzeugend. Das Präparat ist nicht scharf eingestellt und die als Mikroben gedeuteten Gebilde können auch irgend etwas Anderes, z. B. Kunstproducte, sein und sind es wahrscheinlich auch.

Die auf Agar-Agar gezüchteten Mikroben haben, nach dem Photogramm zu urtheilen, nicht eine Spur morphologischer Aehnlichkeit mit den im frischen Blute photographirten. Sie besitzen überhaupt keine Aehnlichkeit mit irgend einer Art der bis jetzt bekannten Kleinlebewesen. Es ist mehr als kühn von den Autoren, auf Grund solcher Klatschpräparate von einer Cultur der Rinderpestmikroben zu sprechen.

Die letzten drei Photogramme sind offenbar nichts weiter als solche von rothen Blutkörperchen. Als Besonderheiten sind an diesen Präparaten Risse in den rothen Blutkörperchen sichtbar, die offenbar durch Ueberhitzung der Präparate entstanden sind. Sapienti sat!

Es ist immerhin die Offenheit anzuerkennen, mit der die Autoren erklären, dass sie keinen Zusammenhang zwischen den angeblich im Blute enthaltenen Mikroben und den durch Culturen erhaltenen entdecken können. Hierin stimmen wir mit ihnen überein.

Die Autoren bestreiten ferner, dass die Injection von frischer Rinderpestgalle, nach R. Koch's Vorschrift ausgeführt, Immunität verleiht. Auf Grund weniger Versuche geben die Autoren an, dass die Galle nicht Immunität, sondern Rinderpest in tödtlicher Form erzeugt.

Solche Laboratoriumsversuche können nicht ins Feld geführt werden gegen die Millionen positiver Immunisirungen mit Galle in der Capcolonie, Basutoland, Deutsch-West-Afrika, Oranje-Freistaat und Transvaal. Diese Behauptung von Nencki und seinen Mitarbeitern mag als Maassstab für die Beurtheilung und Werthbemessung ihrer Auslassungen (wenn von einem Werth der Arbeit überhaupt die Rede sein könnte), über die Entdeckung des Rinderpestmikroben dienen.

Wir glauben nicht, dass die Rinderpestmikroben so klein sind, dass sie mit modernen Linsen nicht gesehen werden könnten. Allerdings ist die Wahrscheinlichkeit, sie zu sehen, eine sehr geringe, denn wir müssen aus bestimmten Gründen annehmen, dass sie kleiner sind z. B. als die Influenzabacillen. Denn sonst müsste man sie z. B. in dem Centrifugensediment grosser Mengen virulenten Blutes ohne Färbung mit Leichtigkeit sehen, da das virulente Blut ja in jedem Tropfen grosse Mengen des Infectionserregers enthalten muss. Bruchtheile eines Tropfens solchen Blutes sind infectiös.



Dass aber der Rinderpestmikrobe nicht so klein ist, um theoretisch wenigstens durch die modernen Mikroskope nicht sichtbar gedacht werden zu können, geht aus der Thatsache hervor, dass der Infectionsstoff Pasteur-, Chamberland- oder Berkefeld-Filter nicht zu passiren vermag. Wenn man nämlich defibrinirtes virulentes Blut durch solche Filter, sei es langsam, sei es rasch, unter Ansaugung filtrirt, so ist das Filtrat selbst in grossen Mengen nicht infectiös, während der Filterrückstand in kleinsten Mengen bei den damit injicirten Thieren Rinderpest erzeugt. Es wäre nun denkbar, dass der Rinderpestmikrobe ein obligatorisch intracorpusculärer Parasit wäre, so dass er aus diesem Grunde nicht in das Filtrat gelangen könnte. Wenngleich diese Annahme sehr unwahrscheinlich ist, so haben wir sie doch auszuschliessen gesucht dadurch, dass wir die Blutkörperchen zum Platzen brachten durch Hinzufügung einer 0·2procent. NaCl-Lösung zum defibrinirten virulenten Blute. Der Erfolg war, wenn die so erhaltene, völlig klare, durchsichtige Lösung in derselben Weise wie oben filtrirt wurde, derselbe.

Wir haben früher bereits über Versuche berichtet, die mit Filtriren von Rinderpestgalle angestellt wurden. Es ergab sich, dass das Filtrat solcher Galle weder Rinderpest, wenn injicirt in gesunde Thiere, erzeugt, noch einen completen Schutz gegen die einige Tage später erfolgende Infection mit 0·2 ccm virulenten Blutes hervorruft. Der Filterrückstand aber, nach sorgfältiger mehrmaliger Auswaschung mit physiologischer Kochsalzlösung, verleiht Rindern bei subcutaner Injection einen completen Schutz, wie die reine Rinderpestgalle, und ruft in kleinen Mengen auch keine Rinderpest hervor.

Angesichts dieses letzterwähnten Experimentes ist die Theorie, dass die chemischen Bestandtheile der Rinderpestgalle den Infectionsstoff an der Injectionsstelle localisiren, etwas erörtert, denn hier waren alle chemischen löslichen Gallenbestandtheile entfernt. Diese Theorie war vor Allem auf der Thatsache basirt, dass Blut von einem mit Rindergalle injicirten Thiere gesunde Thiere nicht inficirt, selbst dann nicht, wenn das Blut solchen Thieren 1 oder 2 Tage nach der Galleninjection entzogen wird. Wir werden indessen an anderer Stelle auf diese Frage zurückkommen.

Da Koch Erfolg gehabt hatte, Thiere mit einer Mischung von Serum und virulentem Blute zu immunisiren, so haben wir diese Experimente wieder aufgenommen und fortgesetzt. Nicht etwa, weil wir glaubten, dass diese Versuche praktische Bedeutung haben könnten; denn da Serum, um haltbar zu sein, mit Phenol versetzt werden muss, so sind



Mischungen des Serums mit dem virulenten Blute kaum anwendbar, ohne dass der Infectionsstoff abgetödtet wird. Auch aus anderen Gründen würde die Methode im Felde nicht anwendbar sein.

Unsere Absicht bei Ausführung dieser Versuche war es, festzustellen, wie das Serum im Reagensglase auf den Rinderpestinfectionsstoff einwirkt, in wie langer Zeit u. s. w. Wir werden hierbei sowohl auf Versuche R. Koch's wie auf unsere eigenen eingehen.

Die Versuche sollen nicht nach der Zeitfolge ihrer Ausführung, sondern nach dem Procentgehalt des zum Serum zugefügten virulenten Blutes geordnet besprochen werden.

2 Thiere wurden injicirt mit einer Mischung von 10 ccm schwachen Serums[1] und 0·05 ccm (= 0·5 Procent) Blutes, welche 24 Stunden an einem kühlen dunklen Orte aufbewahrt wurde. Das Resultat war, dass die Thiere weder an Rinderpest erkrankten, noch immun wurden. Denn als sie 8 Tage später auf ihre Immunität durch Injection virulenten Blutes geprüft wurden, erkrankten und starben sie beide an der Pest.

18 Rinder wurden mit einer Mischung von 0·2 ccm (= 1 Procent) virulenten Blutes und 20 ccm schwachen Serums injicirt. Die Mischung wurde 24 Stunden an einem kühlen, dunklen Orte aufbewahrt. 7 der Thiere (= 40 Procent) erkrankten darnach an Pest, 4 (= 22 Procent) starben. 3 überstanden die Attacke, waren also „gesalzen".

11 der Rinder zeigten kein Fieber oder irgend welche Abweichungen von der Norm; sie wurden später durch Injection von virulentem Blut auf ihre Immunität geprüft. Alle 11 Thiere erkrankten dann darauf und 7 davon starben an der Pest.

Der Gesammtverlust bei diesem Versuch betrug also 60 Procent, die überlebenden 7 Thiere waren „gesalzen".

Ein bemerkenswerther Unterschied war vorhanden, je nach der Zeit, wann die Thiere, welche keine Reaction gezeigt hatten, auf ihre Immunität geprüft wurden nach der Injection der Mischung. War kurze Zeit verstrichen, dann erkrankten die Thiere und genasen, war aber lange Zeit verstrichen, dann erkrankten sie und starben. Hieraus geht hervor, dass es sich nur um eine vorübergehende, passive Immunität handelte.

3 Ochsen wurden injicirt mit einer Mischung von schwachem Serum und 2 Procent virulenten Blutes und zwar 20 ccm der Mischung. Die Mischung hatte vor der Injection 24 Stunden an einem kühlen Orte gestanden. Alle 3 Thiere erkrankten am 4. Tage nach der Injection an

[1] Im Folgenden ist mit „schwachem" Serum immer Serum von Thieren, deren Immunität nicht hochgetrieben ist, also Serum von einfach „gesalzenen" Thieren, die mit nicht mehr als 100 ccm virulenten Blutes injicirt sind, gemeint.



Rinderpest und alle starben. 1 Thier wurde injicirt mit einer Mischung von 10 ccm Serum und 2 Procent virulenten Blutes (nachdem die Mischung 24 Stunden gestanden hatte). Das Thier zeigte darauf keine Reaction und wurde 15 Tage nach der ersten Injection mit 5 ccm virulenten Blutes injicirt. Es erkrankte 4 Tage später und starb an Rinderpest.

3 Thiere wurden mit einer Mischung von 10 ccm schwachen Serums und 10 Procent Rinderpestblutes injicirt. Bei einem Thiere wurde die Mischung unmittelbar, nachdem die beiden Fluida zusammengebracht waren, beim zweiten, nachdem die Mischung 24 Stunden im Eisschrank und beim dritten Thiere, nachdem die Mischung 24 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten war, eingespritzt. Alle 3 Thiere erkrankten am 5., bezw. 4. und 6. Tage nach der Injection an Rinderpest und starben sämmtlich.

Diese Versuche zeigen, dass das schwache Rinderpestserum im Stande ist, das Rinderpestvirus nach längerer Einwirkung im Reagensglase zu zerstören, wenn nur kleine Mengen des das Virus enthaltenden Blutes zum Serum hinzugefügt werden, nicht mehr als 0·5 Procent. In diesem Falle tritt nach Injection der Mischung weder Erkrankung noch Immunität von nennenswerther Dauer ein. Wenn die Menge des virulenten Blutes im Procentgehalt gesteigert wird, so wird in 60 Procent der Fälle der Infectionsstoff völlig unwirksam gemacht, in 20 Procent folgt der Injection solcher Mischungen ein in Genesung übergehender Rinderpestanfall und in 20 Procent starben die Thiere an Rinderpest nach der Einverleibung solcher Mischungen. Als die Thiere, welche die 60 Procent bilden, nach einiger Zeit (10 Tage) auf ihre Immunität durch Injection von 0·5 ccm virulenten Blutes geprüft wurden, erkrankten alle. Es war also keine völlige Immunität mehr vorhanden. Aber 30 Procent der erkrankten Thiere genasen, so dass also noch ein gewisser Grad von passiver Immunität vorhanden sein musste.

Bei Versuchen mit hochwerthigem Serum, dessen specifische Wirksamkeit im Thierkörper, d. i. dessen Schutzkraft, ungefähr 10 Mal so hoch geschätzt werden mag wie die des schwachen Serums, erhielten wir sehr ähnliche Resultate.

4 Rinder wurden injicirt mit einer Mischung von 20 ccm Serum und 5 Procent virulenten Blutes. Die Mischung wurde unmittelbar vor der Injection bereitet. 3 der Thiere erkrankten an Rinderpest nach 8- bis 9tägiger Incubationsdauer und starben. Das 4. Thier erkrankte nicht, hatte auch kein Fieber und widerstand der Infection mit virulentem Blute später. Es wurde mit grossen Dosen virulenten Blutes injicirt und,



da es gute Reactionen hatte, zur Serumgewinnung benutzt. Es muss bemerkt werden, dass dies der einzige von uns beobachtete Fall ist, wo mit Hülfe von Mischungen des Serums und virulenten Blutes eine Immunität von längerer Dauer erzielt wurde ohne Fieber.

Wir haben dann ferner zahlreiche Versuche angestellt mit hochwerthigem Serum, dem 1, 2, 3, 5, 9, 16, 23, 28, 33 Procent virulentes Blut zugefügt waren. Die Mischungen wurden 24 Stunden an einem kühlen, dunklen Orte gehalten. Die injicirte Menge betrug 10, 20 und 30 ccm. Einzelne Thiere erkrankten darnach an Rinderpest und starben, andere zeigten keine Reaction und waren auch nicht immun.

Die Schlussfolgerung aus allen diesen Versuchen ist, dass die specifisch-mikrobicide Fähigkeit des Rinderpestserums in vitro gering ist und dass das Serum selbst nach 24stündiger Einwirkung nicht mehr Infectionsstoff zu zerstören vermag, als in 1 Procent hinzugefügten virulenten Blutes, auf die Menge des Serums berechnet, enthalten ist.

Da die Wirksamkeit desselben Serums, wie es in den letzten Versuchen gebraucht ist, bei Anwendung der Simultanmethode sich als hochwerthig und bei kleineren Mengen, als bei Mischungen benutzt wurde, zuverlässig erwies, so müssen wir auch für das Rinderpestserum die Theorie aufstellen, welche schon zur Erklärung der Wirkungsweise anderer Immunsera herangezogen ist, dass das Serum erst durch Vermittelung des Thierkörpers seine specifischen Schutzkräfte zu entfalten vermag.

Fragen dieser Art sind schwierige Probleme schon bei Immunsera, welche mit Hülfe von specifischen wohlbekannten Mikroorganismen gewonnen sind, sei es ihren Reinculturen oder ihren Giften, wie Cholera, Tetanus, Diphtheria, wo man doch in der Lage ist, mit genauen Mengen und Gewichten zu arbeiten. Wie viel schwieriger sind solche Fragen aber bei der Rinderpest, deren Erreger wir noch nicht kennen.

Es erscheint indessen auch beim Rinderpestserum wohl die Theorie zutreffend zu sein, dass die specifischen Antikörper in dem Serum in einer inactiven Form vorhanden sind und erst im Thierkörper unter dem Einflusse des Reizes, den sie auf die Zellen ausüben, aus der inactiven in die active Modification von den Zellen übergeführt werden.

Man könnte nun annehmen, dass vielleicht im Rinderpestserum gar keine Antikörper präformirt seien, sondern dass das Serum nur als ein specifischer Reiz wirke. Durch Untersuchungen namentlich R. Pfeiffer's über Cholera wissen wir, dass das sehr unwahrscheinlich ist. Aber es lässt sich doch durch das Experiment auch beim Rinderpestserum diese Frage bis zu einem gewissen Grade von Sicherheit entscheiden, wenn

auch nicht in dem Maasse, wie bei Cholera. Injicirt man nämlich einem Thier grosse Dosen virulenten Rinderpestblutes (100, 200, 500 ccm), so kann man dieselben völlig unwirksam machen durch Injection genügend grosser Mengen Immunserums, z. B. 50 bis 100 ccm, während kleine Dosen Serums im Stich lassen, z. B. 20 bis 30 ccm. Mit anderen Worten, es lässt sich ein zahlenmässiger Zusammenhang feststellen zwischen der Menge des injicirten Serums und derjenigen des Infectionsstoffes. Eine solche Beziehung würde sich durch die Theorie, das Serum wirke nur als Reiz, nicht erklären lassen. Denn wir wissen, dass selbst beim Maximum eines Reizes die Zelle, z. B. Speichelzelle, nur ein bestimmtes Quantum von Arbeit zu verrichten im Stande ist, dann ermüdet sie. Auch bestehen zwischen Grösse des Reizes und Grösse der Arbeit nicht solche engen Beziehungen. Beim Rinderpestserum müssen wir auf Grund der Thatsache, dass ganz enorme Mengen von Infectionsstoff durch entsprechende Serummengen neutralisirt werden können, daher auch annehmen, dass die Antikörper präformirt im Serum vorhanden sind. Da im Reagensglase die Wirkung dieses Immunserums so verhältnissmässig gering ist, so muss angenommen werden, dass die lebende Zelle nothwendig ist, um die Antikörper für das damit injicirte Thier nutzbar zu machen.

Die Reagensglaswirkung ist vielleicht überhaupt nicht durch die im Thierkörper gegen den Infectionsstoff Schutz verleihenden Antikörper, sondern durch Stoffe bedingt, welche das Analogon der Paralysine des Cholera- und Typhusserums bilden.

Die Wirkung normalen Serums haben wir verschiedentlich zur Controle bei allen unseren Versuchen mit dem hochwerthigen und schwachen Rinderpestserum herangezogen, indem wir Thiere mit vielfachen Mengen der benutzten Dosen des Immunserums injicirten. Selbst 500, ja 1000 ccm normalen Serums zeigten nie den geringsten Effect auf den Verlauf der Rinderpest oder auf den Infectionsstoff.

Edington hat behauptet, dass der natürliche Vorgang der Blutgerinnung den im Blute enthaltenen Infectionsstoff zerstöre. Wir haben früher schon in Berichten darauf hingewiesen, dass diese Behauptung unrichtig ist. Es kann für die Zukunft aber vielleicht wichtig werden, bestimmt zu wissen, ob thatsächlich die Gerinnung irgend einen Einfluss auf das Contagium hat. Wenn man z. B. die Natur eines rinderpestverdächtigen Falles feststellen will durch Injection von Blut, das einem solchen Thiere entzogen ist, und unter Verhältnissen, wo man nur coagu-



lirtes Blut benutzen kann, dann kann diese Frage von grosser Bedeutung werden.

Wir geben die umstehenden beiden Figuren Nr. 1003 und 1070, welche keinen Zweifel darüber aufkommen lassen können, dass das Gerinnen des Blutes den Rinderpestinfectionsstoff nicht zerstört. In diesen Experimenten war das Blut nach der Gerinnung 24 Stunden bei Zimmertemperatur, die damals sehr hoch war, aufbewahrt.

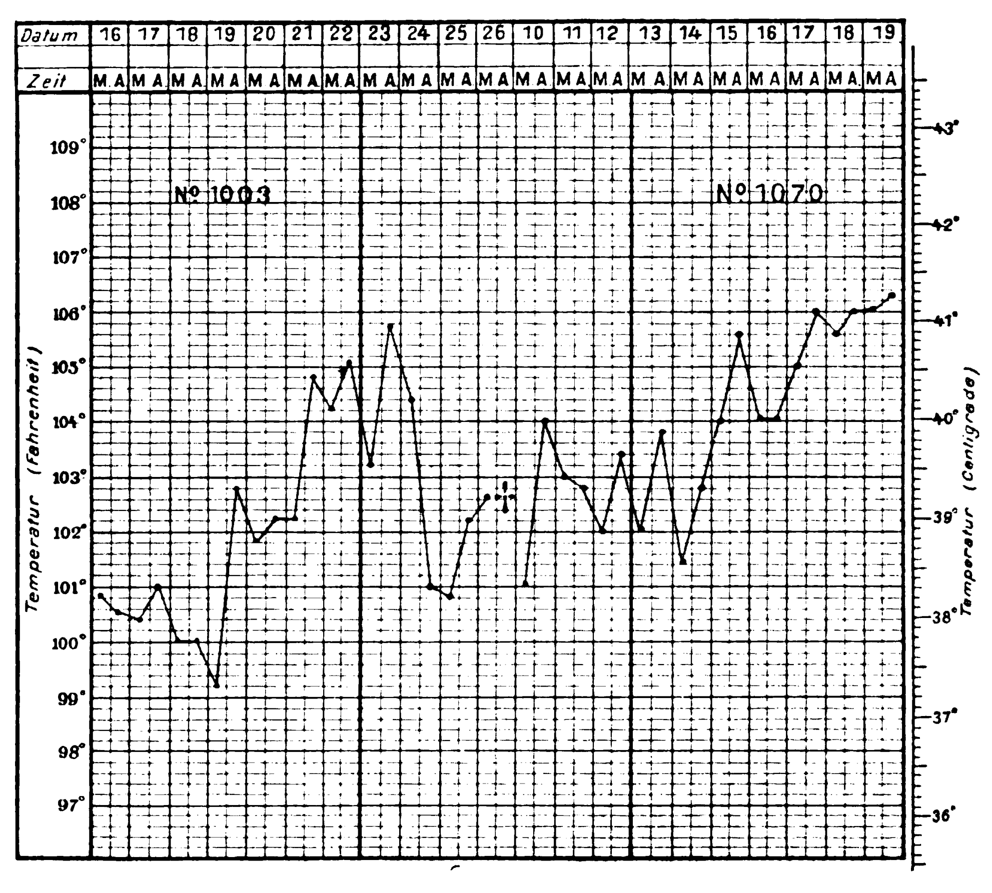


Fig. 9.

Nr. 1003. Injicirt mit 5 grm coagulirtem Blut von Nr. 967, nachdem das Coagulum einen Tag gestanden hatte, am 16. December.

Nr. 1070. Injicirt mit 0·2 grm coagulirtem Blut, welches 1 Tag bei Zimmertemperatur gestanden hatte, am 10. Januar. Am 20. Januar wurde das Thier, schon sterbend, zu Tode geblutet zur Gewinnung virulenten Blutes.

Wir haben schon erwähnt, dass trächtige Thiere, wenn sie in Folge der Simultanmethode an Rinderpest erkranken, selbst dann, wenn das Fieber niedrig bleibt, häufig abortiren.



Meistens ist in diesem Falle die Frucht todt, zuweilen wird aber auch ein lebendes Kalb geboren. Wichtig ist, dass unter solchen Umständen, d. h. nach erfolgreicher Anwendung der Simultanmethode geborene Kälber stets immun sind. Wir haben oft solche Thiere auf ihre Immunität durch Injection virulenten Blutes oder dadurch, dass wir sie der natürlichen Infection aussetzten, geprüft, sie aber nie zu inficiren vermocht.

Fanden wir bei der Obduction im Uterus von Thieren, die an Rinderpest gestorben waren, eine todte Frucht, so haben wir nie verfehlt, dieselbe sorgfältig zu untersuchen und haben stets auch an den Organen der Frucht die für Rinderpest charakteristischen Veränderungen nachweisen können. Unter allen Cautelen wurde ferner stets Blut aus dem Herzen der Früchte entnommen und in gesunde Rinder injicirt. Mit Ausnahme eines Falles, der wohl durch Spontaninfection zu erklären ist, erwies sich das Blut solcher Foeten nicht infectiös. Da in diesen Fällen negative Resultate absolut beweisend sind, umsomehr, als das zur Controle injicirte Blut der Mutter jener Foeten stets vollvirulent war, so muss man annehmen, dass die pathologischen Befunde an den Därmen der Foeten, namentlich die Ecchymosen und Hyperämie als Folge einer Giftwirkung aufzufassen sind, nicht als Folgen einer Infection.

Für die Erklärung der Vorgänge, welche als Folge der Simultanmethode sich im Thierkörper abspielen, ist die Thatsache wichtig, dass Blut der dem Simultanprocess unterworfenen Thiere während aller Stadien des Fiebers infectiös für gesunde Thiere ist und sich vollvirulent erweist, d. h. stets tödtlich ist. Da die nach der Simultanmethode behandelten Thiere, obgleich ihr Blut so infectiös ist, genesen, muss diese Thatsache, welche wir, um Gewissheit darüber zu gewinnen, wieder und wieder durch den Versuch festgestellt haben, überraschen.

Wir enthalten uns hier indessen aller Theorieen, wie die Wirkung des Serums bei der Simultanmethode zu erklären ist.

Schlussbemerkungen.

Es empfiehlt sich, am Ende dieses Berichtes nach bestem Wissen eine kurze Besprechung der verschiedenen Methoden, welche in Süd-Afrika zur Bekämpfung der Rinderpest angewandt sind, sowie der damit erzielten Erfolge vorzunehmen.



Das Niederschiessen inficirter Herden und die Zäune.

Da jede Behandlung rinderpestkranker Thiere mit Medicamenten sich aussichtslos und unwirksam erwies, so wurde Angesichts der grossen Mortalität (90 Procent und mehr) das Niederschiessen inficirter Herden und strenge Absperrung inficirter Bezirke durch Zäune und Wächter durchgeführt. Und in verschiedenen Ländern, so z. B. vor einigen Jahrzehnten in England, mit Erfolg, um ein Weiterumsichgreifen der Seuche zu verhüten und die Seuche zu gleicher Zeit auszurotten. Selbst heutzutage würde sich z. B. in England, wenigstens beim ersten Auftreten der Epidemie, dies Verfahren empfehlen. Es muss allerdings betont werden, dass man wohl kaum in anderen Ländern gleiche Erfolge wie in England haben würde, das wegen seiner Lage auf einer Insel besonders günstig in dieser Beziehung gestellt ist.

In Folge dieser Thatsachen zauderte das Landwirthschaftsministerium, von den in früheren Zeiten in Europa gemachten Erfahrungen Gebrauch machend, nicht, beim Erscheinen der Rinderpest in der Nähe der Grenzen der Capcolonie eine früher so bewährte Methode anzuwenden. Alle inficirten Herden wurden niedergeschossen, ein Drahtzaun, bewacht von zahlreichen Posten, errichtet, um die natürliche und leicht zu übersehende Küste Englands gewissermassen zu ersetzen; Personen und Güter, welche die Grenze passirten, wurden der Desinfection unterworfen.

Die Kosten für diese Maassregeln, vor Allem die Errichtung des Drahtzaunes, waren, wie sich denken lässt, enorm. Eile bedingt stets vermehrte Kosten.

Aber zu jener Zeit schrie man in der Colonie nach derartigen Schutzmaassregeln, von denen man so viel erwartete. Als aber die Rechnung bezahlt werden sollte, war die öffentliche Stimmung umgeschlagen und Niemand hatte für Niederschiessen der Rinder und den Zaun mehr ein Wort übrig, ebenso wenig wie für Diejenigen, welche mit persönlicher grosser Aufopferung und unter viel Mühe das Schutzsystem in die Wege geleitet hatten.

Da wir mit diesem Theile der Rinderpestbekämpfung persönlich gar nichts zu thun hatten, so können wir offen darüber unser Urtheil abgeben, ohne in den Verdacht zu gelangen, dass wir uns selbst preisen. Wir freuen uns, eine Gelegenheit zu haben, die Dienste derjenigen Personen hier anerkennend hervorzuheben, mit denen wir in anderen Punkten aus einander gehen.

Nun misslang ja leider der Versuch, die Seuche von der Colonie fern zu halten. Man darf sich darüber nicht wundern, wenn man die ungeheuere Grenzlinie ins Auge fasst, deren Vertheidigung es galt.

Man weiss aus der Geschichte der grossen Volksseuchen ja, dass Cordon und Quarantäne eigentlich nie, selbst unter viel günstigeren Bedingungen, als sie hier obwalteten, das Erhoffte, nämlich die sichere Fernhaltung von Seuchen erzielt haben, die mit elementarer Gewalt heranbrausen.

Wir wollen absolut nicht alle Massnahmen, die von der Regierung getroffen wurden, vertheidigen. Viele derselben müssen wir als verkehrt und zwecklos bezeichnen. Aber es darf nicht vergessen werden, dass manche Anordnungen Zugeständnisse an die öffentliche Meinung waren, die doch auch befriedigt werden will.

Im Allgemeinen haben sich alle Anordnungen dieser Categorie wirksamer erwiesen, als man erwarten konnte.

Denn der grosse Erfolg aller dieser Vorbeugungsmaassregeln war, dass die Seuche Monate lang am raschen Fortschreiten gehindert wurde, ja kaum nennenswerth vom Norden den Grenzen der Colonie näher rückte. Lassen wir Diejenigen, welche mit dem Verhalten der Regierung und über die grossen Kosten unzufrieden sind, sich einmal völlig klar darüber werden, wie denn heute die Colonie wirthschaftlich aussehen würde, wenn die Seuche damals nicht zeitweise aufgehalten wäre. Denn die dadurch gewonnene Zeit war von unbezahlbarem Werthe. Sie ermöglichte es R. Koch, die Gallenmethode zu entdecken und durch seine Arbeiten den Grundstein für die Ausbauung anderer besserer und billigerer Methoden zu legen.

Die Verluste an Rindern durch die Seuche in Süd-Afrika sind ja als grosse zu bezeichnen. Es sind Hunderttausende von Thieren (schätzungsweise 750 000 = 25 Procent des Gesammtbestandes) der Seuche erlegen. Aber in allen denjenigen Theilen, wo eines der Schutzimpfungsverfahren angewandt ist, ist der Verlust im Allgemeinen nicht grösser als 5 Procent gewesen, während noch heute in nicht geimpften Beständen höchstens 5 Procent der Thiere mit dem Leben davonkommen nach schwerer Krankheit. Es ist ein Triumph der Wissenschaft, dass südlich des Oranjeflusses, d. h. in demjenigen Theile Süd-Afrikas, wo die Mehrzahl der Thiere immunisirt sind, nicht mehr als 10 Procent des Gesammtviehbestandes verloren gegangen sind.

R. Koch's Gallenmethode.

Diese Immunisirungsmethode wurde in bemerkenswerth kurzer Zeit von R. Koch entdeckt und darf als etwas ganz Neues auf dem Gebiete der Immunität bezeichnet werden, mit Recht. Die Benutzung der Galle verspricht auch bei anderen Krankheitsprocessen von Nutzen für Erzielung von Immunität zu sein.



Die Gallenmethode wurde zuerst mit Enthusiasmus aufgenommen. Die Begeisterung legte sich leider indessen sehr bald, als durch Fahrlässigkeit von Seiten der Inoculatoren, die meist ganz ungeübte Leute waren, oder durch Galleimpfungen in der unmittelbaren Nachbarschaft von Infectionsherden häufig Rinderpest sich nach den Galleinjectionen zeigte in scheinbar reinen Herden. Dadurch kam die Methode in Misscredit.

Die Methode hat allerdings Nachtheile:

a) Rinderpestgalle ist absolut kein Heilmittel;

b) die mit Galle geimpften Thiere sind eine Woche lang nach der Impfung noch empfänglich für die Infection;

c) die Zahl der Thiere, welche geschlachtet werden müssen, um 100 Rinder zu immunisiren, schwankt zwischen 3 und 7.

R. Koch kannte diese Nachtheile der Methode bereits, als er Süd-Afrika verliess, einen vierten konnte er aber bei seiner Abreise nicht wissen, nämlich:

d) die durch die Gallenimpfung verliehene Immunität geht nach 4 bis 6 Monaten meistens völlig verloren.

Aber alle diese Nachtheile der Methode zugegeben, behaupten wir auch heute noch, dass bei obligatorischer Durchführung der Galleimpfungen Süd-Afrika längst völlig frei von Rinderpest sein würde.

Wenn jede Infectionsgelegenheit durch Immunisirung jedes gehornten Thieres entfernt wird, dann ist die Dauer der Immunität nicht von so grosser Bedeutung.

Denn ausserhalb des Körpers scheint sich der Infectionsstoff nicht lange Zeit lebend zu erhalten. Derselbe ist leicht durch Austrocknung zu zerstören. In diesem Klima würde er auch ohne Anwendung von Desinfectionsmitteln allein durch die Wirkung der Sonne und Trockenheit ausgerottet worden sein.

Einen Beweis für diese Annahmen finden wir in den Erfolgen der Immunisirung mit Galle im Basutoland. Als dort die Seuche einbrach, machten die Basutohäuptlinge die Gallenimpfung obligatorisch. Von 100000 Thieren wurden 70000 am Leben erhalten. Die nicht inoculirten Herden starben fast völlig weg. Und jetzt ist Basutoland seit mehr als einem Jahre völlig frei von Rinderpest. Es fehlt dort eben an Infectionsgelegenheit, und Einschleppung ist dort jetzt so gut wie ausgeschlossen.

Derselbe Erfolg wurde in Deutsch-Südwest-Afrika durch Koch's Galleimpfungen erzielt.

In der Capcolonie dagegen hat jeder kleine District seinen eigenen Willen durchgesetzt und gethan, was ihm gut dünkte. In dem einen



District ist diese, in dem anderen jene Methode durchgeführt, in einem dritten ist gar nichts geschehen.

Die Folge dieser Vielköpfigkeit ist die Thatsache, dass wir noch Rinderpest im Lande haben.

Koch's Gallenmethode ist vor Allem brauchbar beim ersten Auftreten der Seuche in einem Lande.

Thiere zur Serumgewinnung sind dann nicht zur Hand, und bis zur Hochtreibung der Immunität bei ihnen würden 2 bis 3 Monate vergehen. Rinderpestgalle hat man dagegen überall, wo Rinderpest ist.

Aus diesen Gründen sollte Koch's Gallenmethode zu Beginn einer Epidemie mit aller Energie zur Bildung einer Immunzone durchgeführt werden. Das wird im Allgemeinen genügen, um den Fortgang der Epidemie für eine Zeit lang aufzuhalten und Zeit zur Präparirung hochwerthigen Serums geben, um die Kolle-Turner'sche Simultanmethode systematisch und obligatorisch durchzuführen.

Glyceringalle.

Die irrige Annahme, dass Rinderpestgalle Rinderpest in tödtlicher Form bei den damit injicirten Thieren hervorrufen könne, hat den Gedanken aufkommen lassen, diese Gefahr durch Hinzufügung von Glycerin zu beseitigen.

Es wurde von der Glyceringalle behauptet:

a) dass die Seuche nicht durch diese Mischung verbreitet werden kann;

b) dass sie grosse Ersparniss bedeutet, weil alle Sorten Galle brauchbar werden;

c) dass die Mischung haltbar ist.

Wir haben bereits (11. September 1897) über diese Methode berichtet und wiederholen hier unsere Bedenken, die sich bei der Handhabung der Methode in grösserem Maassstabe vollauf bewahrheitet haben.

Was den ersten Punkt anbetrifft, so geben wir zu, dass Glycerin die Galle der Fähigkeit berauben würde, Rinderpest zu verbreiten, aber wir müssen sagen, dass diese Beweisführung etwas komisch berührt bei Dr. Edington, der glaubt, „dass Glycerin keine zerstörende Wirkung auf das Rinderpestcontagium ausübt.“ Die Seuche kann nur durch das Contagium verbreitet werden. Wenn das Glycerin das Contagium aber nicht zerstört, was soll die Mischung dieser Chemikalie mit der Galle hier für einen Zweck haben?

Was die Ersparniss anbetrifft, die mit Glyceringalle angeblich erzielt wird, so trifft auch das nicht zu. Ursprünglich wurde empfohlen, 10 ccm



Galle mit 5 ccm Glycerin zu mischen. Wären dann thatsächlich alle Sorten von Galle brauchbar gewesen und hätte sich die Mischung auch nur für 10 Tage aufbewahren lassen, ohne an Wirksamkeit einzubüssen, dann würde die Ersparniss bei Anwendung dieser Methode eine beträchtliche gewesen sein.

Unglücklicher Weise zeigten die Thatsachen, dass die Verhältnisse ganz anders liegen, als hier angenommen. Diejenigen Gallenproben, welche bei Anwendung von Koch's Methode, also ohne Glycerin, unbrauchbar sind, d. h. keine Immunisirungskraft besitzen, werden auch durch das Glycerin nicht brauchbar, denn Glycerin besitzt keine gegen Rinderpest immunisirende Fähigkeiten.

Ferner konnten wir Dr. Edington auf dieser Station demonstriren, dass bei Benutzung der von ihm angewandten Dosis Glyceringalle (15 ccm) nur die Hälfte der damit injicirten Thiere sich immun erweist, wenn sie 10 Tage später mit 0·2 ccm virulenten Rinderpestblutes geprüft werden. Als Dr. Edington diese Versuche gesehen hatte, erhöhte er die Dosis seiner Mischung von 15 auf 20, ja 25 ccm. Dadurch fällt aber jede Ersparung von Galle weg.

Einen Vortheil hat die Mischung: sie hält sich. Ihre immunisirende Kraft ist allerdings sehr gering und ist bedingt durch eine in der Galle enthaltene chemische Substanz. Glyceringalle kann keine active Immunität wie die reine Galle erzeugen, sondern nur eine passive von kurzer Dauer. Die Glyceringalle wurde daher benutzt, wie von uns eine kleine Dosis des hochwerthigen Serums, um den Thieren zunächst eine passive Immunität zu verleihen, welche durch Injection von kleinen Mengen virulenten Blutes 10 Tage nach der Galleninjection in eine active verwandelt werden soll. Thatsächlich ist das Experiment zuweilen geglückt, indem solche zuerst mit Glyceringalle und dann 10 Tage später mit virulentem Blut injicirten Thiere an Rinderpest erkrankten und genasen, also „gesalzen" wurden. Da aber der Gehalt der Galle an präformirter immunisirender Substanz sehr wechselnd ist, und es nicht möglich ist, das im Voraus zu bestimmen, so waren auch die Resultate sehr ungleich. Manchmal erkrankten nach der Injection des virulenten Blutes die Thiere überhaupt nicht, manchmal aber betrugen die Verluste bis zu 50 und 60 Procent. Die Methode, mit Hülfe von Glyceringalle und nachfolgender Blutimpfung die Thiere zu „salzen", wurde deshalb von Dr. Edington selbst aufgegeben.

Die Anwendung von Glyceringalle ist daher unter keinen Umständen zu empfehlen.



Die Injection von virulentem Rinderpestblut nach der Injection von Koch's Galle.

Man hoffte Anfangs, durch diese Maassnahme eine Erhöhung der Immunität und damit eine Verlängerung der Immunitätsdauer zu erzielen. Auch Dr. Turner theilte diese Hoffnungen.

Die Thatsachen haben indessen gezeigt, dass nur dann eine Verlängerung der Immunitätsdauer durch die Injection virulenten Blutes nach den Galleimpfungen erzielt wird, wenn die Zufuhr des virulenten Blutes so gesteigert wird, dass eine Reaction erfolgt.

Deshalb ist die Injection virulenten Blutes nach der Galle verlassen worden und nicht zu empfehlen.

Wo Galleimpfungen überhaupt angezeigt sind, da verwende man reine Galle, zur Dauerimmunisirung aber andere Methoden, vor Allem die Simultanmethode.

Die Anwendung des defibrinirten Immunblutes.

Der Gebrauch des defibrinirten Immunblutes wurde zuerst von Theiler, Pitchford, Bordet und Danysz empfohlen.

Die Thiere, von welchen das Immunblut gewonnen wurde, wurden in geringem Maasse hochgetrieben durch drei Injectionen virulenten Blutes in Dosen von 100 ccm. Dadurch wurde der Titre des Blutes sicher erhöht. Wir müssen indessen solches Immunblut als minderwerthig mit Bezug auf seine specifische Schutzkraft bezeichnen. Denn um ein Thier, welches nach der Injection solch immunen Blutes der Infection ausgesetzt wurde, mit einiger Sicherheit soweit gegen die Wirkung des Infectionsstoffes zu schützen, dass es die Krankheit übersteht, sind 200 ccm und mehr erforderlich.

In Transvaal sind viele Thiere mit Hülfe dieser Methode immunisirt worden.

Die Nachtheile der Methode sind folgende:

a) da die zur Ausführung der Methode nöthige Menge des Immunblutes gross ist, so ist eine grosse Anzahl Thiere nothwendig, um die Methode im Grossen anzuwenden;

b) das Blut kann, namentlich bei so grossen Mengen, zur Uebertragung von Blutkrankheiten führen;

c) das defibrinirte Blut ist nicht haltbar, kann daher nicht auf seine Wirksamkeit geprüft werden, die doch so wechselnd ist. Das ist von grosser Wichtigkeit.

Seit der allgemeinen Einführung des Rinderpestserums ist die Methode (als „French Method“ hier bekannt) unseres Wissens nicht in ausgedehntem Maasse mehr angewandt worden. Zweifellos würde die Methode unter Bedingungen, wo kein Serum hergestellt werden kann, von gewissem Werthe sein.

Die Simultan-Methode (Methode Kolle-Turner).

Die Vortheile der Benutzung des Serums sind:

a) Serum kann im Grossen fabrikmässig dargestellt werden;

b) Serum ist haltbar und kann vor Abgabe auf seine Wirksamkeit geprüft werden;

c) Serum kann infectiöse Krankheiten nicht übertragen;

d) Serum kann sehr hochwerthig hergestellt werden. Ein hochimmunisirtes Thier liefert bei einem Aderlass genügend Material, um 4 bis 5 Mal mehr Thiere zu immunisiren, als es möglich ist mit Blut, welches durch einen Aderlass von den zur Ausführung der „French Method“ benutzten Thieren erhältlich ist;

e) Serum ist billiger, als jedes andere bisher bekannte Rinderpest-Immunisirungsmittel.

Man kann von einem rinderpestkranken Thiere genug virulentes Blut gewinnen, um 5 Immunthiere z. B. mit 2000 ccm, also einer grossen Dosis, zu injiciren. Diese 5 Thiere können dann jedes mindestens 3 Mal zu 5000 ccm zur Ader gelassen werden, ehe sie eine neue Zufuhr virulenten Blutes gebrauchen. Wir erhalten also $3 \times 5 \times 5000 = 75000$ ccm hochwerthiges Immunblut. Durchschnittlich erhält man davon 30000 ccm Serum, also genügend, um mindestens 1500 Ochsen bei Anwendung der Simultanmethode zu „salzen“.

Es ist nach Allem in dem Bericht Dargelegten unnöthig, hier nochmals aus einander zu setzen, wie das Serum anzuwenden ist, vorausgesetzt, dass es gutes, hochwerthiges Serum ist. Wir wissen jetzt, dass die Simultanmethode sicherer, einfacher und billiger, sowie wirksamer ist, denn irgend eine andere Methode und haben unsere Gründe für diese Behauptung mit Beweismaterial in dem Bericht ohne Rückhalt gegeben. Die verschiedenen Modificationen der Methode, welche seit der ersten Veröffentlichung von anderer Seite vorgeschlagen sind, haben im besten Falle nicht mehr Zweck, als Serum zu vergeuden.

Mit Rücksicht auf die Zukunft können wir unsere Besorgniss nicht unterdrücken, dass die Seuche, weil die Immunisirung der Rinder in der Capcolonie nicht systematisch und obligatorisch durchgeführt ist, enzootisch in der Colonie wird, wie sie es in anderen Ländern des Erdballes geworden

ist. Es ist unserer Ansicht nach eben nothwendig, dass nicht nur hier und da inoculirt wird, sondern dass alle Rinder in der Colonie für eine längere Zeitdauer immunisirt werden. Dann würde die Seuche, was jetzt leider noch nicht der Fall, erlöschen müssen.

Die Regierung ist für das Bestehen dieser Zustände nicht zu tadeln. Es ist der Bevölkerung jede Gelegenheit gegeben, ihre Herden zu immunisiren. Immer und immer wieder haben die Behörden die Inoculation empfohlen. Es ist sehr zu bedauern, dass die Farmer nicht mehr diesen Rathschlägen ihr Ohr geliehen haben.

Wir können diesen Bericht nicht schliessen, ohne den Herren Dr. W. W. Stoney und J. W. Phillips für ihre Dienste, die sie uns auf der Station als Assistenten geleistet haben, zu danken. Ihre eifrige Pflichterfüllung bei Beobachtung aller Vorsichtsmaassregeln und der Sorgfalt, welche unsere Experimente und das Immunisirungswerk in solchen Dimensionen verlangten, haben in nicht geringem Grade mit dazu beigetragen, unsere Arbeiten mit Erfolg zu krönen.



Nachtrag zu vorstehender Arbeit.

Seit Abfassung der vorstehenden Arbeit ist die von uns entdeckte Simultan-Methode ferner in ausgedehntestem Maasse in Rhodesia angewandt worden. Die Zahl der dorthin von uns entsandten Dosen des Serums übersteigt weit 100 000. Wir haben Grund anzunehmen, dass auch sämmtliches Serum dort verbraucht ist. Die Verluste haben nicht 1 Procent erreicht, während über 90 Procent der Thiere gesalzen sind. Der Erfolg ist, dass Rhodesia völlig frei von Rinderpest geworden ist, was früher trotz Anwendung anderer Immunisirungsmethoden nicht erreicht wurde. Ein Theil der immunisirten Rinder geht über den Zambesi nach Norden, wo immer noch Rinderpest herrschen soll. Die Verwaltung von Rhodesia hat uns die Uebersendung der Statistiken der mit Simultan-Methode auf den Regierungsstationen injicirten Thiere versprochen, sobald sie selbst im Besitze der genauen zahlenmässigen Angaben ist.

Ferner ist auf einer in Capstadt im Juni dieses Jahres unter dem Vorsitz des Ministers für Landwirthschaft abgehaltenen Conferenz von den Mitgliedern derselben einstimmig beschlossen worden, für die Zukunft in der Capcolonie die Simultan-Methode allein anzuwenden.

Capstadt, October 1898.



[Aus dem hygienischen Institut zu Giessen.]

Ueber die desinficirende Wirkung des Metacresols Hauff im Vergleich zu Orthocresol, Paracresol, Tricresol Schering, Phenol und Guajakol.

Von

Dr. **Carl Seybold,**
Assistenten am pathologischen Institut der K. Thierärztlichen Hochschule zu Stuttgart.

Unter den Derivaten des Phenols haben in neuerer Zeit die Cresole besondere Aufmerksamkeit erregt. Dieselben sind nahe Verwandte der Carbolsäure, von der sie sich dadurch unterscheiden, dass an Stelle eines H des Benzolkernes die CH_3-Gruppe getreten ist. Je nach der Stellung dieser Methylgruppe unterscheidet man drei Isomere: das Ortho-, Para- und Metacresol. Gewonnen werden die Cresole vorzüglich aus Steinkohlentheer durch Destillation.

Die ersten Versuche über die desinficirenden Eigenschaften der Cresole hat Fraenkel[1] angestellt. Er hat jedoch mit Präparaten gearbeitet, welche in Wasser so ziemlich ganz unlöslich waren. Deshalb hat er Mischungen aus Cresol und concentrirter Schwefelsäure zu gleichen Gewichtsmengen hergestellt. Die so entstandenen Gemenge lösten sich in jedem beliebigen Verhältnisse leicht in Wasser. Er folgte hierbei dem Vorgange von Laplace,[2] der gezeigt hat, dass die sogenannte rohe 25 procentige Carbolsäure, welche in Wasser an sich fast unlöslich ist, mit Schwefelsäure eine Mischung eingeht, welche in Wasser und allen wässerigen Flüssigkeiten löslich ist und hervorragende desinficirende Eigenschaften besitzt. Fraenkel hat gefunden, dass die Desinfectionskraft

---

[1] *Diese Zeitschrift.* 1889. Bd. VI.
[2] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1888. Nr. 7.



solcher Mischungen von Schwefelsäure und Cresol ganz erheblich ist. Am stärksten wirken die aus Metacresol hervorgegangenen Lösungen, die 4 procentig Milzbrandsporen schon nach 8 Stunden abtödten. Ihnen folgt die Paraverbindung, welche diese Wirkung in 10 Stunden ausübt; daran schliesst sich, allerdings in einigem Abstande, die Orthoverbindung an. Fraenkel hat weiterhin nachgewiesen, dass die desinficirende Wirkung dieser unter Kühlung hergestellten Mischungen nicht auf einer neuen innigeren Verbindung beruht, die in dem Gemenge von H_2SO_4 und Rohcresol etwa hätte entstehen können, sondern dass „bei der Vereinigung von Schwefelsäure und Rohcresol, wenn dieselben unter Kühlung mit einander in Berührung gebracht werden, der Hauptsache nach das Cresol und die Schwefelsäure jedes für sich erhalten bleibt und dass eben der wirksame Bestandtheil in diesem Gemisch das Cresol ist. Durch die Schwefelsäure ist das Cresol in eine lösliche Form übergeführt, gewissermassen aufgeschlossen worden. Wenn jedoch die sorgfältige Kühlung unterbleibt, so bilden sich Cresolsulfosäuren, die erheblich weniger desinficirende Eigenschaften besitzen, als das reine Cresol.“ Trotz seiner bedeutenden desinficirenden Wirkung konnte dieses Fraenkel'sche Gemisch in der Praxis keine Verwendung finden, weil es durch den Gehalt an freier Schwefelsäure ziemlich starke ätzende Eigenschaften besitzt.

Nachdem so durch die Versuche Fraenkel's die Aufmerksamkeit auf den hohen desinfectorischen Werth der Cresole gelenkt worden war, ging das Bestreben der Industrie dahin, dieselben in wasserlösliche Form zu bringen und auf diese Weise ein Ersatzmittel für das Phenol zu schaffen, welches den Anforderungen nicht mehr genügte. Zur Erlangung dieses Zweckes wurden die verschiedenartigsten Verfahren angewendet: Hammer[1] benutzte zur bakteriologischen Prüfung Lösungen der Cresole in metacresotinsaurem Natrium; in diesen Lösungen bilden sich keine Doppelverbindungen, sondern die Cresole sind in neutraler wässeriger Lösung vorhanden; das metacresotinsaure Natrium lässt sich durch das salicylsaure Natrium und durch die Salze aller Orthoxybenzolcarbonsäuren ersetzen. Für solche neutrale Cresollösungen schlug Hüppe den Namen „Solveole“ vor. Diese Lösungen haben den grossen Vortheil, dass sie neutral sind und nicht ätzend wirken, ferner lassen sie sich mit Wasser beliebig verdünnen, ohne dass auch bei längerem Stehen die Cresole wieder ausgeschieden werden, und zwar ist es gleichgültig, ob Ortho-, Meta- oder Paracresol, oder Gemische derselben mit einander verwendet werden. Hammer fand, wie Fraenkel, dass Metacresol am stärksten wirkt, dann folgt das Paracresol und zuletzt das Orthocresol. Nur beim Bacillus Prodigiosus fand er, dass

[1] *Archiv für Hygiene.* 1891. Bd. XII. — 1892. Bd. XIV.



die Paracresollösung der Lösung von Metacresol überlegen war und zwar tödtete die 0·3 procent. Paracresollösung den Prodigiosus nach 10 Minuten ab, während die Metacresollösung diese Wirkung erst nach 45 Minuten ausübte. Durch weitere Versuche hat sich herausgestellt, dass man durch Auflösung der Cresole in den Salzen der Cresole selbst, z. B. in Cresolnatrium, klare Desinfectionslösungen erhält. Diese Präparate sind unter dem Namen „Solutol" bekannt.

Eine andere Art und Weise, die Cresole wasserlöslich zu machen, ist die, welche bei dem Pearson'schen Creolin stattfindet, nämlich durch Zusatz von Seifen. Hierher gehört auch das Lysol, die Seifenlösung der rohen Carbolsäure nach Nocht, Cresolin und Cresol Raschig. Diese Seifenlösungen zerfallen nach ihrem Verhalten beim Verdünnen mit Wasser in zwei Gruppen. Die eine Gruppe (Creolin und Cresolin) bildet beim Verdünnen mit Wasser Emulsionen, während bei der anderen Gruppe, deren Hauptrepräsentant das Lysol ist, die Löslichkeit durch Wasser keine Einbusse erleidet.

Alle diese angeführten Präparate haben nur durch die verschiedenen angegebenen Zusätze das Vermögen der Wasserlöslichkeit erlangt. Da zum Theil durch derartige Zusätze die Wirkung des Cresols beeinflusst und abgeschwächt wurde, so ging das Bestreben der Industrie dahin, reine Cresole herzustellen, welche ohne jeglichen Zusatz zu einem gewissen Grade in Wasser löslich sind. So entstand das Tricresol Schering, ferner das Cresolum purum liquefactum Noerdlinger und das Metacresol Calle. Von diesen drei Präparaten sind nur die beiden erstgenannten befriedigend in Wasser löslich und zwar Tricresol zu 2 Procent und das Cresol. pur. liquefact. zu 3 Procent, während das von der Firma Calle und Co.-Biebrich am Rhein in den Handel gebrachte Metacresol nur zu 0·5 Procent in Wasser löslich ist. Um eine höhere Löslichkeit zu erzielen, ist es nach den Untersuchungen von Schütz[1] nothwendig, zu 2 Theilen Metacresol 5 Theile Alkohol hinzuzusetzen, dann kann man eine 2procentige Lösung in Wasser herstellen.

Was die Wirkung dieser drei Cresolpräparate anlangt, so hat von Schlepegrell[2] constatirt, dass das Cresol. pur. liquefactum, welches nichts anderes als Orthocresol bezw. dessen Hydrat ist, sich als das am wenigsten wirksame dieser Präparate erwiesen hat. Es ist an desinficirender Kraft schwächer, als das Tricresol, welches von Hammerl[3] einer

[1] Schütz, Cresolpräparate. *Hygienische Rundschau.* 1896.

[2] von Schlepegrell, Tricresol Schering und Cresol purum liquefact. Noerdlinger als Desinfectionsmittel. *Dissertation.* Göttingen 1895.

[3] *Archiv für Hygiene.* 1894. Bd. XXI.



eingehenden Untersuchung unterzogen wurde. Seine Resultate, die auch von Anderen bestätigt wurden, gehen dahin, dass das Schering'sche Tricresol in gleichprocentigen Lösungen eine doppelt so starke baktericide Wirkung besitzt, wie die Carbolsäure. Nach der Angabe der Fabrik besteht das Tricresol aus 40 Procent Metacresol, 35 Procent Orthocresol und 25 Procent Paracresol und sei fast ganz frei von Pyridinen.

Das Metacresol Calle ist nach den Untersuchungen von Schütz der Carbolsäure an desinficirender Kraft erheblich überlegen; es hat aber, wie schon erwähnt, den Nachtheil an sich, dass es ohne Alkoholzusatz nur zu 0·5 Procent in Wasser löslich ist.

Aus den Befunden sämmtlicher Autoren, welche sich mit der bakteriologischen Prüfung der Cresole befasst haben, geht das übereinstimmende Resultat hervor, dass von den drei Isomeren das Metacresol das stärkste und wirksamste ist. Der Umstand jedoch, dass dasselbe auch das von allen Cresolen am wenigsten wasserlösliche ist, hat eine weitere Verbreitung dieses Präparates in der Praxis gehindert.

Der chemischen Fabrik J. Hauff in Feuerbach ist es gelungen, reines Metacresol herzustellen, welches 2 procentig bei kurzem Schütteln vollkommen in Wasser löslich ist. Da es von Interesse ist, zu erfahren, welchen Werth dieses Präparat in Beziehung auf desinficirende Kraft besitzt, so habe ich es unternommen, dasselbe auf seine baktericide Wirkung zu untersuchen, sowie in Vergleich zu ziehen mit Phenol, Guajakol, Tricresol Schering, ferner mit Ortho- und Paracresol, welch letztere beiden Präparate auch von der Firma Hauff hergestellt werden und ebenfalls 2 procentig in Wasser löslich sind.

Die chemischen Eigenschaften des Metacresols Hauff, sowie von Ortho- und Paracresol sind nach den Angaben von Hrn. Dr. Dieterle, des Chemikers der Firma J. Hauff, folgende:

	Orthocresol.	**Metacresol.**	**Paracresol.**
Reinheit	Sämmtliche drei Cresole sind chemisch rein. Ortho- und Metacresol entstanden aus Steinkohlentheer. Paracresol synthetisch aus chemisch reinem Paratoluidin.		
Schmelzpunkt	33°	— 4°	30°
Siedepunkt	188°	198/199°	198°
Geruch	angenehm aromatisch	intensiv anhaftend	widerlich beim synthetischen
Löslichk. in H_2O	2 Procent	2 Procent	2 Procent
Löslichkeit in Alkohol	leicht löslich	leicht löslich	leicht löslich
Formel	$C_6H_4\begin{cases}CH_3 & 1.\\ OH & 2.\end{cases}$	$C_6H_4\begin{cases}CH_3 & 1.\\ OH & 3.\end{cases}$	$C_6H_4\begin{cases}CH_3 & 1.\\ OH & 4.\end{cases}$



Die Cresole sind in geschmolzenem Zustande wasserhelle, stark lichtbrechende Flüssigkeiten. In erstarrtem Zustande sind sie von krystallisirter Carbolsäure kaum zu unterscheiden. Während Ortho- und Metacresol aus der sogen. rohen Carbolsäure isolirt worden sind, musste das Paracresol, um sichere Garantie für seine Reinheit zu haben, aus chemisch reinem Paratoluidin nach bekanntem Vorgange synthetisch dargestellt werden. Vielleicht liegt hierin ein Grund der grossen Verschiedenheit bezüglich der Giftigkeit der Körper, eine Erscheinung, welche schon mehrfach z. B. beim Chinolin verschiedener Abstammung beobachtet worden ist.

Allgemeine Anhaltspunkte darüber, dass Körper in der Parastellung eine grössere toxische Wirkung entfalten gegenüber denjenigen anderer Stellung, sind bis jetzt nicht bekannt. Jedenfalls lässt sich auf Grund des bis jetzt bekannten Beobachtungsmateriales eine Gesetzmässigkeit noch nicht darauf bauen.

Zur Ermittelung der toxischen Eigenschaften der drei Cresole unternahm ich folgende Versuche; dieselben geschahen sämmtlich an glatthaarigen Meerschweinchen; die Application der Präparate erfolgte stets subcutan in 2 procentiger wässeriger Lösung.

Metacresol.

Meerschweinchen I: Gew. 550 grm, erhält 0·25 Metacresol pro Kilo Körpergewicht. Das Thier bekommt 7 ccm der 2 procentigen wässerigen Lösung subcutan am Bauche injicirt. Das Thier bleibt ganz munter; ebenso in den nächsten 5 Tagen; die Futteraufnahme war während des ganzen Versuches nicht gestört.

Meerschweinchen II: Gew. 680 grm, erhält 0·5 Metacresol pro Kilo Körpergewicht. Das Thier bekommt 17 ccm der wässerigen 2 procentigen Lösung subcutan am Bauche injicirt. Es bildete sich eine ziemlich grosse Blase durch die injicirte Flüssigkeit. Das Thier bleibt ganz munter, ebenso während der nächsten 5 Tage.

Meerschweinchen III: Gew. 770 grm, erhält 0·75 Metacresol pro Kilo Körpergewicht. Das Thier bekommt 28·5 ccm der 2 procentigen wässerigen Lösung subcutan am Bauche injicirt und zwar 15 ccm links und 13.5 ccm rechts von der Medianebene. Nach 10 Minuten zeigte das Thier an den Extremitäten krampfhafte Zuckungen, sowie Krämpfe am ganzen Körper. Nach einer Stunde wurden dieselben schwächer und hörten nach einer weiteren halben Stunde ganz auf. Das Thier ist wieder ganz munter und frisst vorgelegtes Brod. In den folgenden 5 Tagen war das Thier ganz munter.



Orthocresol.

Meerschweinchen IV: Gew. 490 grm, erhält 0·75 Orthocresol pro Kilo Körpergewicht. Das Thier bekommt 18·5 ccm einer 2procentigen wässerigen Lösung subcutan am Bauche injicirt und zwar je die Hälfte links und rechts neben der Medianebene. 3 Minuten nach der Injection wird das Thier unruhig und bekommt Zuckungen in der Hinterhand, welche sich allmählich auf den ganzen Körper ausdehnen, ferner Zittern mit dem Kopfe. Nach 10 Minuten Lähmung der Nachhand. Das Thier fällt mit der hinteren Partie um; nach 15 Minuten fällt es auf die rechte Seite; klonisch-tonische Krämpfe der Extremitäten; Zuckungen am ganzen Körper. Corneareflexe erloschen. Salivation vorhanden. Von Zeit zu Zeit nehmen die Krämpfe an Intensität zu. 1¼ Stunde nach der Injection lassen die Krämpfe nach. Nach einer weiteren halben Stunde versucht sich das Thier mit Anstrengung aufzurichten; es gelingt ihm aber nicht; allmählich kommt es nach einer weiteren Viertelstunde auf die Füsse und kriecht langsam auf dem Tische umher. 3 Stunden nach der Injection ist das Thier ziemlich munter und kann gut laufen; nach weiteren 3 Stunden hat sich das Thier so ziemlich erholt. In den folgenden 5 Tagen zeigt das Thier keine Veränderung im Gesundheitszustande; es ist ganz munter.

Paracresol.

Meerschweinchen V: Gew. 400 grm, erhält 0·25 Paracresol pro Kilo Körpergewicht. Das Thier bekommt 5 ccm der 2procentigen wässerigen Lösung subcutan am Bauche injicirt. 5 Minuten nach der Injection wurde das Thier unruhig und zitterte zuerst in der Nachhand, dann verbreitete sich das Zittern auf den ganzen Körper. Die Reflexerregbarkeit war erhöht. Im Uebrigen war das Thierchen lebhaft und sprang umher, sobald man es berührte. Nach einer halben Stunde hörte das Zittern auf. Am anderen Tage war das Thier ganz munter, ebenso in den 5 folgenden Tagen.

Meerschweinchen VI: Gew. 380 grm, erhält 0·5 Paracresol pro Kilo Körpergewicht. Das Thier bekommt 9·5 ccm der 2procentigen wässerigen Lösung subcutan am Bauche injicirt. Nach 15 Minuten wird das Thier unruhig; es zeigen sich Zuckungen in der Hinterhand; dieselben gehen allmählich auf den ganzen Körper über. Nach 17 Minuten werden die Krämpfe stärker. Nach 23 Minuten fällt das Thier um und bleibt auf der linken Seite liegen. Klonisch-tonische Krämpfe der Extremitäten. 3½ Stunden nach der Injection: Exitus letalis.

Meerschweinchen VII: Gew. 520 grm, erhält 0·75 Paracresol pro Kilo Körpergewicht. Das Thier bekommt 19·5 ccm der 2procentigen wässerigen



Lösung subcutan zur Hälfte am Bauch, zur Hälfte am Rücken injicirt. Nach 10 Minuten wird das Thier unruhig, zittert in der Hinterhand; das Zittern verbreitet sich allmählich über den ganzen Körper; nach 14 Minuten beginnen krampfhafte Zuckungen in der Hinterhand, die allmählich auf den ganzen Körper übergehen. Nach 18 Minuten wird das Thier in der Hinterhand schwach und vermag sich hinten nur noch mit Mühe aufrecht zu erhalten. Nach 20 Minuten fällt es hinten um; nach 22 Minuten liegt es ganz auf der linken Seite. Klonisch-tonische Krämpfe an sämmtlichen Extremitäten. Der ganze Körper wird von krampfhaften Zuckungen erschüttert. Die Krämpfe nehmen immer mehr an Intensität zu. Corneareflex erloschen. Nach 3 Stunden liegt das Thier in der Agonie; bedeutende Salivation vorhanden. 4 Stunden nach der Injection: Exitus letalis.

Meerschweinchen VIII: Gew. 440 grm, erhält 0·75 Paracresol pro Kilo Körpergewicht. Das Thier bekommt 16·5 ccm der 2procentigen wässerigen Lösung subcutan am Bauche injicirt. Nach 5 Minuten wird das Thier unruhig und bekommt Zuckungen am ganzen Körper. Nach 10 Minuten fällt es um. Klonisch-tonische Krämpfe an den Extremitäten. Corneareflex erloschen. Das Krankheitsbild ist wie bei Nr. VII.

Zwei Stunden nach der Injection: Exitus letalis.

In diesen Versuchen wurde die letale Dosis bei Ortho- und Metacresol nicht erreicht. Noch höhere Dosen anzuwenden verbot sich durch die Masse der zu injicirenden Flüssigkeit. Das Paracresol hat sich als ziemlich giftig erwiesen, da dessen letale Dosis zwischen 0·25 und 0·5 pro Kilo Körpergewicht liegt. Ihm an Giftigkeit zunächst kommt das Orthocresol; das Ungiftigste aller dieser drei Präparate ist das Metacresol; dasselbe ist viel weniger giftig als das Phenol, dessen Todesdosis schon bei 0·4 liegt, während beim Metacresol Gaben von 0·5 gegeben werden können, ohne dass sie irgend welche Störung im Organismus hervorrufen. Erst die Dosis von 0.75 verursuchte Auftreten von leichten Krämpfen, welche jedoch bald wieder verschwanden und keine weitere Störung hinterliessen.

Bei meinen Versuchen, betreffend die Untersuchung über die bactericide Wirkung habe ich folgende Mikroorganismen verwendet: als Repräsentant der sporentragenden Bakterien wählte ich den Bacillus Anthracis; von den vegetativen Bakterienformen den Bac. Prodigiosus, Bac. Pyocyaneus und Staphylococcus pyogenes aureus. Alle diese Mikroorganismen zeigen in den Culturen ein so charakteristisches Wachsthum, dass ihre Entwickelung auf den ersten Blick erkannt werden kann. Staph. pyog. aureus und Bac. pyocyaneus bieten als Typen der Eiterungserreger ein besonderes Interesse für die Desinfection bei chirurgischen Operationen.



Die Versuchsanordnung war bei den vegetativen Bakterienformen folgende: Ich verwendete 48 Stunden alte, gut entwickelte Culturen, welche bei Staph. pyog. aureus und Bac. pyocyaneus auf schrägem Agar im Brütschrank bei 37° und bei Bac. prodigiosus im Brütschrank bei 22° gewachsen waren. Den Belag von diesen schiefen Agarculturen schabte ich mit einer starken Platinöse ab und stellte in sterilem Wasser damit eine Aufschwemmung her, welche ich durch sterile Glaswolle filtrirte, damit grössere Partikelchen zurückbleiben. Zu je 5 ccm dieser Aufschwemmung setzte ich die gleiche Menge des zu prüfenden Präparates in wässeriger Lösung und zwar in doppelter Concentration, als ich zu prüfen beabsichtigte. Diejenigen Präparate, welche 2procentig in Wasser löslich waren, kamen 1procentig zur Wirkung u. s. f. je nach der gewünschten Stärke. Nachdem das Gemisch gut vertheilt war, entnahm ich nach bestimmten Zeiträumen aus demselben eine mittelgrosse, immer gleich bleibende Platinöse und übertrug dieselbe je in 10 ccm Fleischbrühe und auf schräg erstarrtes Agar, so dass dadurch im Versuch zwei Parallelreihen entstanden und zwar die eine mit flüssigen, die andere mit festen Nährböden. Diese so geimpften Röhrchen wurden bei Staph. pyog. aureus und Bac. pyocyaneus im Brütschrank bei 37° und bei Bac. prodigiosus im Brütschrank bei 22° gehalten. Die Beobachtungszeit auf eventuelles Wachsthum betrug 10 Tage. Trat in einem Fleischbrüheröhrchen Trübung auf, so wurde aus demselben 10 ccm Agar geimpft, zur Platte gegossen und sodann dieselbe beobachtet, ob der verwendete Mikroorganismus zur Entwickelung kam oder ob die Trübung von Verunreinigung herrührte. Bei den festen Nährböden war ja das Wachsthum der verwendeten Bakterien ein so charakteristisches, dass ein weiteres Ueberimpfen nicht nothwendig war. Die steril gebliebenen Röhrchen wurden nach Ablauf der zehntägigen Beobachtungszeit mit dem betreffenden Mikroorganismus geimpft, um eine etwaige entwickelungshemmende Wirkung des in Spuren durch die Oese übertragenen Desinfectionsmittels auszuschliessen. Zur Controle setzte ich zu 5 ccm der Aufschwemmung die gleiche Menge sterilen Wassers und impfte nach den gleichen bestimmten Zeiträumen analog an Fleischbrühe und schiefes Agar über, sodann beobachtete ich das Wachsthum der Culturen.

Die Resultate, welche ich bei diesem Verfahren erhalten habe, sind aus nachstehenden Tabellen ersichtlich. Zuerst verwendete ich sämmtliche Präparate in 2procentigen wässerigen Lösungen, so dass sie also 1procentig zur Wirkung kamen.

Tabelle Ia.

Metacresol. Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Procent.

Bacillus prodigiosus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 Std.	2 Tag.	3 Tag.	4 Tag.	5 Tag.	6 Tag.	7 Tag.	8 Tag.	9 Tag.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 Std.	2 Tag.	3 Tag.	4 Tag.	5 Tag.	6 Tag.	7 Tag.	8 Tag.	9 Tag.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle Ib.

Orthocresol. Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Procent.

Bacillus prodigiosus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten		—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

— bedeutet kein Wachsthum.



Tabelle Ic.

Paracresol. Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Procent.

Bacillus prodigiosus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach									
	24 Std.	2 Tag.	3 Tag.	4 Tag.	5 Tag.	6 Tag.	7 Tag.	8 Tag.	9 Tag.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 Std.	2 Tag.	3 Tag.	4 Tag.	5 Tag.	6 Tag.	7 Tag.	8 Tag.	9 Tag.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle Id.

Tricresol. Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Procent.

Bacillus prodigiosus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach									
	24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

— bedeutet kein Wachsthum.



Tabelle Ie.

Guajakol. Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Procent.

Bacillus prodigiosus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach									
	24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	—	±	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	—	±	+	+	+	+	+	+	+	+
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle If.

Phenol. Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Procent.

Bacillus prodigiosus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach									
	24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	—	±	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	—	—	±	±	+	+	+	+	+	+
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

— bedeutet kein Wachsthum; ± Wachsthum ziemlich stark; + Wachsthum stark.

Den Bacillus prodigiosus tödten die drei Cresole und das Tricresol nach einer Minute Einwirkung ab, während Phenol und Guajakol dazu bei der Ueberimpfung auf flüssigen Nährboden 2 Minuten, bei Verwendung von festen Nährböden 30 Minuten brauchen. Diese Erscheinung, dass in den Resultaten bei den flüssigen und festen Nährböden ein Unterschied, und zwar in diesem Falle ein ziemlich grosser entsteht, lässt sich nur so erklären, dass der dem Bacillus prodigiosus am besten zusagende Nährboden bei diesem Versuch der feste ist. Wenn die Einwirkung der Lösungen eine verhältnissmässig kurze Zeit dauert, so werden die Bakterien zum Theil nicht getödtet, sondern nur in ihrer Entwickelungsfähigkeit geschädigt und verlieren dieselbe vollends, sobald sie — auch dem Einfluss des Desinfectionsmittels entzogen, in andere ungünstige Verhältnisse, in diesem Falle in einen ihnen schlecht zusagenden Nährboden gelangen. Sobald die Bakterien jedoch auf einen ihnen gut zusagenden Nährboden kommen, so können sie unter dem Einfluss der günstigen Verhältnisse sich erholen und allmählich zum Wachsthum gelangen. Je länger die Lösungen einwirken, eine desto grössere Zahl der Bakterien wird abgetödtet und es kommen nur wenige, geschwächte, jedoch noch lebende Bakterien zur weiteren Entwickelung auf dem günstigen Nährboden. Bei der äussersten Einwirkungszeit, in welcher noch ein, wenn auch geringes Wachsthum erfolgte, bemerkte ich deutlich aus der Art und Weise des Wachsthums, dass nur einige fortpflanzungsfähige Bakterien verimpft vorhanden waren, denn oft waren bei diesen Versuchen nur 2 bis 3 einzelne Colonieen zur Entwickelung gekommen, die zudem gewöhnlich entfernt von einander lagen.

Auch in den folgenden Versuchen ist häufig die Thatsache anzutreffen, dass entweder der flüssige oder der feste Nährboden den betreffenden Mikroorganismen zur Entwickelung mehr zusagt und dass dadurch die erhaltenen Resultate etwas differiren.

Tabelle IIa.

Metacresol. Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Procent.

Bacillus pyocyaneus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach									
	24 Std.	2 Tag.	3 Tag.	4 Tag.	5 Tag.	6 Tag.	7 Tag.	8 Tag.	9 Tag.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—		—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle IIa. (Fortsetzung.) Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 Std.	2 Tag.	3 Tag.	4 Tag.	5 Tag.	6 Tag.	7 Tag.	8 Tag.	9 Tag.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle IIb.

Orthocresol. Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Procent.

Bacillus pyocyaneus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nährboden: Schräges Agar.										
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle IIc.

Paracresol. Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Procent.

Bacillus pyocyaneus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

— bedeutet kein Wachsthum.

Tabelle IIc. (Fortsetzung.) Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	Nach									
	24 Sdt.	2 Tag.	3 Tag.	4 Tag.	5 Tag.	6 Tag.	7 Tag.	8 Tag.	9 Tag.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle IId.

Tricresol. Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Procent.

Bacillus pyocyaneus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach									
	24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nährboden: Schräges Agar.										
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle IIe.

Guajakol. Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Procent.

Bacillus pyocyaneus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach									
	24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	—	—	±	+	+	+	+	+	+	+
5 „	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

— bedeutet kein Wachsthum; ± Wachsthum ziemlich stark; + Wachsthum stark.



Tabelle IIe. (Fortsetzung.) Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	Nach									
	24 Std.	2 Tag.	3 Tag.	4 Tag.	5 Tag.	6 Tag.	7 Tag.	8 Tag.	9 Tag.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle IIf.

Phenol. Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Procent.

Bacillus pyocyaneus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach									
	24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

— bedeutet kein Wachsthum; ± Wachsthum ziemlich stark; + Wachsthum stark.

Den Bacillus pyocyaneus tödten die drei Cresole ebenfalls schon nach einer Minute Einwirkung ab, während Tricresol hierzu bei Verwendung von flüssigen Nährböden 2 Minuten braucht; beim festen Nährboden dagegen erfolgt die Abtödtung auch schon nach einer Minute. Guajakol und Phenol tödten den Bacillus pyocyaneus erst nach 10 Minuten ab. Bei diesem Versuch erwies sich der flüssige Nährboden als der dem Wachsthum des Bacillus pyocyaneus besser zusagende. Die Differenz ist jedoch nur eine geringe.

Tabelle IIIa.

Metacresol. Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Procent.

Staphylococcus pyogenes aureus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle IIIb.

Orthocresol. Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Procent.

Staphylococcus pyogenes aureus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

— bedeutet kein Wachsthum.



Tabelle IIIc.

Paracresol. Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Procent.

Staphylococcus pyogenes aureus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	0	±	±	±	±	±	±	±	±
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle IIId.

Tricresol. Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Procent.

Staphylococcus pyogenes aureus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

— bedeutet kein Wachsthum; 0 Wachsthum gering; ± Wachsthum ziemlich stark.



Tabelle IIIe.

Guajakol. Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Procent.

Staphylococcus pyogenes aureus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach									
	24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30 „	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle IIIf.

Phenol. Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Procent.

Staphylococcus pyogenes aureus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach									
	24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30 „	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 Std.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30 „	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+

— bedeutet kein Wachsthum; ± Wachsthum ziemlich stark; + Wachsthum stark.



Den Staphylococcus pyogenes aureus tödten Ortho-, Meta- und Tricresol nach einer Minute Einwirkung ab; ebenso Paracresol bei Verwendung des flüssigen Nährbodens; dagegen braucht dasselbe beim festen Nährboden hierzu 2 Minuten. Gerade bei Paracresol war aus der Art und Weise des Wachsthums deutlich zu erkennen, dass nur wenige lebensfähige Bacillen übergeimpft wurden; denn im Ganzen kamen nur 3 ziemlich kleine Colonieen zur Entwickelung, von welchen die eine etwa in der Mitte der schiefen Agaroberfläche sass, während die beiden anderen unten in der Nähe des Condenswassers, jedoch getrennt von einander sich befanden. Phenol und Guajakol tödten den Staphylococcus pyogenes aureus nach 30 Minuten noch nicht ab.

Aus den Resultaten dieser drei Tabellen geht zur Genüge hervor, dass Phenol und Guajakol an desinficirender Kraft viel schwächer sind als die drei isomeren Cresole und Tricresol in gleich procentigen Lösungen. Deshalb liess ich diese beiden Präparate in den folgenden Versuchen weg, in welchen ich mit schwächeren Lösungen arbeitete. Um genau die Grenzen der Wirkung, sowie den Werth der einzelnen Cresole unter sich festzustellen, ging ich in der Concentration der Lösungen herab. Zuerst verwendete ich $1^1/_2$ procent. Lösungen, so dass die Präparate $^3/_4$ procentig zur Wirkung kamen. Die Resultate sind ersichtlich aus den Tabellen IV, V und VI.

Tabelle IVa.

Metacresol. Zusatz: $1^1/_2$ Procent, also Wirkung: $^3/_4$ Procent.

Bacillus prodigiosus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nährboden: Schräges Agar.										
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

— bedeutet kein Wachsthum.



Tabelle IVb.

Orthocresol. Zusatz: $1^1/_2$ Procent, also Wirkung: $^3/_4$ Procent.
Bacillus prodigiosus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
3 „	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
5 „	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
10 „	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
2 Minuten	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
3 „	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
5 „	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
10 „	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

Tabelle IVc. **Paracresol.** Zusatz $1^1/_2$ Proc., also Wirkung $^3/_4$ Proc.
Bacillus prodigiosus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
2 Minuten	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
3 „	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
5 „	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
10 „	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
2 Minuten	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
3 „	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
5 „	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
10 „	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

Tabelle IVd. **Tricresol.** Zusatz: $1^1/_2$ Proc., also Wirkung: $^3/_4$ Proc.
Bacillus prodigiosus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
3 „	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
5 „	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
10 „	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
2 Minuten	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
3 „	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
5 „	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
10 „	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−



In dieser Concentration tödten Meta- und Paracresol den Prodigiosus nach einer Minute Einwirkung ab, ebenso Ortho- und Tricresol bei Verwendung von festen Nährböden. Dagegen brauchen die letzteren hierzu bei flüssigem Nährboden 2 Minuten. Bei diesem Versuch hat also der flüssige Nährboden dem Bacillus prodigiosus besser zugesagt, im Gegensatz zu dem bei der Tabelle I gewonnenen Resultate, bei welchem das Verhältniss umgekehrt war.

Tabelle Va.

Metacresol. Zusatz: $1^1/_2$ Procent, also Wirkung: $^3/_4$ Procent.

Bacillus pyocyaneus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach									
	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle Vb.

Orthocresol. Zusatz: $1^1/_2$ Procent, also Wirkung: $^3/_4$ Procent.

Bacillus pyocyaneus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—



Tabelle Vc.

Paracresol. Zusatz: $1^1/_2$ Procent, also Wirkung: $^3/_4$ Procent.
Bacillus pyocyaneus.
Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle Vd.

Tricresol. Zusatz: $1^1/_2$ Procent, also Wirkung: $^3/_4$ Procent.
Bacillus pyocyaneus.
Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	±	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Den Bacillus pyocyaneus tödten Meta- und Paracresol nach einer Minute Einwirkung ab, ebenso Orthocresol bei Verwendung von festem Nährboden, dagegen braucht dasselbe bei flüssigem Nährboden hierzu 2 Minuten. Das Tricresol wirkt schwächer; es tödtet bei festem Nährboden den Pyocyaneus ab nach 2 Minuten und bei flüssigem Nährboden nach 5 Minuten. Bei diesem Versuche sagt also der flüssige Nährboden dem Pyocyaneus besser zu als der feste, übereinstimmend mit dem Resultat der Tabelle II.



Tabelle VIa.

Metacresol. Zusatz: $1^1/_2$ Procent, also Wirkung: $^3/_4$ Procent.
Staphylococcus pyogenes aureus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle VIb. **Orthocresol.** Zusatz: $1^1/_2$ Proc., also Wirkung: $^3/_4$ Proc.

Staphylococcus pyogenes aureus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle VIc. **Paracresol.** Zusatz: $1^1/_2$ Proc., also Wirkung: $^3/_4$ Proc.

Staphylococcus pyogenes aureus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	—	±	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—



Tabelle VId. **Tricresol.** Zusatz: $1^1/_2$ Proc., also Wirkung: $^3/_4$ Proc.
Staphylococcus pyogenes aureus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				Nährboden: Schräges Agar.						
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Den Staphylococcus pyogenes aureus tödten Meta- und Orthocresol in $^3/_4$ procent. Lösung bei Verwendung von festen Nährböden nach einer Minute Einwirkung ab, dagegen erst nach 2 Minuten bei flüssigem Nährboden. Ihnen an Wirkung zunächst kommt das Tricresol, welches bei festem Nährboden den Staphylococcus pyogenes aureus nach 2 Minuten, bei flüssigem Nährboden nach 5 Minuten abtödtet. Als das schwächste von diesen 4 Präparaten gegenüber dem widerstandsfähigen Staphylococcus pyogenes aureus hat sich das Paracresol erwiesen, welches denselben bei festem Nährboden nach 3 Minuten abtödtet; bei flüssigem Nährboden gelingt dagegen die Abtödtung nach 10 Minuten noch nicht.

Aus den Resultaten dieses Versuches geht hervor, dass von den vier verwendeten Präparaten das Metacresol gleichmässig am stärksten desinficirend wirkt gegenüber den 3 angegebenen Mikroorganismen. Ihm an Wirkung zunächst gegenüber dem Staphylococcus pyogenes aureus, dem wichtigsten der 3 zur Untersuchung verwendeten Bakterien, kommt das Orthocresol, während das Tricresol und Paracresol viel schwächer wirken; am schwächsten das letztere, welches jedoch in der Wirkung gegenüber dem Bacillus prodigiosus und pyocyaneus dem Ortho- und Tricresol überlegen ist; es wirkt hier so stark wie Metacresol. Gegenüber dem Bacillus prodigiosus sind Orthocresol und Tricresol einander bezüglich ihrer desinficirenden Kraft vollständig gleichwerthig, dagegen wirkt das Tricresol beim Bacillus pyocyaneus schwächer als das Orthocresol.

In den folgenden Versuchen ging ich in der Concentration noch tiefer; ich verwendete 1 procent. Lösungen, so dass die Präparate $^1/_2$ procentig zur Wirkung kamen. Die Resultate sind ersichtlich aus den Tabellen VII, VIII, IX.

Tabelle VIIa.

Metacresol. Zusatz: 1 Procent, also Wirkung: $^1/_2$ Procent.
Bacillus prodigiosus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
2 Minuten	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
3 "	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
5 "	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
10 "	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

Nährboden: Schräges Agar:

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
3 "	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
5 "	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
10 "	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

Tabelle VIIb. **Orthocresol.** Zusatz: 1 Proc., also Wirkung: $^1/_2$ Proc.

Bacillus prodigiosus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 "	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
10 "	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+
3 "	−	0	±	+	+	+	+	+	+	+
5 "	−	0	±	±	±	+	+	+	+	+
10 "	−	−	−	−	±	±	±	+	+	+

Tabelle VIIc. **Paracresol.** Zusatz: 1 Proc., also Wirkung: $^1/_2$ Proc.

Bacillus prodigiosus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
2 Minuten	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
3 "	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
5 "	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
10 "	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
3 "	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
5 "	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
10 "	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

Tabelle VIId.

Tricresol. Zusatz: 1 Procent, also Wirkung: $^1/_2$ Procent.

Bacillus prodigiosus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach									
	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	—	0	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	—	—	0	0	±	±	+	+	+	+
10 „	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+

Den Bacillus prodigiosus tödten Meta- und Paracresol in dieser Concentration bei festen Nährböden nach 2 Minuten Einwirkung ab; bei flüssigem Nährboden dagegen nach einer Minute. Dieselben sind also, genau wie im vorigen Versuche, diesem Mikroorganismus gegenüber gleichwerthig. Nach ihnen an Wirkung kommen Ortho- und Paracresol, welche so ziemlich gleich stark wirken dem Prodigiosus gegenüber.

Tabelle VIIIa.

Metacresol. Zusatz: 1 Procent, also Wirkung: $^1/_2$ Procent.

Bacillus pyocyaneus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach									
	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—



Tabelle VIIIb.

Orthocresol. Zusatz: 1 Procent, also Wirkung: $^1/_2$ Procent.
Bacillus pyocyaneus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach									
	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	±	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle VIIIc. **Paracresol.** Zusatz: 1 Proc., also Wirkung: $^1/_2$ Proc.
Bacillus pyocyaneus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle VIIId. **Tricresol.** Zusatz: 1 Proc., also Wirkung: $^1/_2$ Proc.
Bacillus pyocyaneus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Den Bacillus pyocyaneus tödten in dieser Concentration Ortho-, Meta- und Tricresol gleichmässig nach 5 Minuten Einwirkung ab; ihnen etwas überlegen hat sich das Paracresol gezeigt; jedoch ist die Differenz nur gering.

Tabelle IXa.

Metacresol. Zusatz: 1 Procent, also Wirkung: $^1/_2$ Procent.

Staphylococcus pyogenes aureus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach									
	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
10 „	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±

Tabelle IXb.

Orthocresol. Zusatz: 1 Procent, also Wirkung: $^1/_2$ Procent.

Staphylococcus pyogenes aureus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach									
	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle IXc.

Paracresol. Zusatz: 1 Procent, also Wirkung: $^1/_2$ Procent.
Staphylococcus pyogenes aureus.
Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	—	—	±	±	±	±	±	±	±	±

Tabelle IXd.

Tricresol. Zusatz: 1 Procent, also Wirkung: $^1/_2$ Procent.
Staphylococcus pyogenes aureus.
Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	—	—	±	±	±	±	±	±	±	±

Den Staphylococcus pyogenes aureus tödten alle diese Präparate nach 10 Minuten Einwirkung noch nicht ab, mit Ausnahme des Metacresols, welchem bei Verwendung von flüssigem Nährboden die Abtödtung nach 10 Minuten gelingt. Da ich hier also die Grenze nicht erreichte, so machte ich einen weiteren Versuch, wobei ich grössere Intervalle aufstellte. Das Resultat ist aus Tabelle X (a bis d) ersichtlich.

Tabelle Xa. **Metacresol.** Zusatz: 1 Proc., also Wirkung $^1/_2$ Proc.
Staphylococcus pyogenes aureus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach									
	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 Minuten	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
20 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
60 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Nährboden: Schräges Agar.									
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 Minuten	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
20 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
60 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle Xb. **Orthocresol.** Zusatz: 1 Proc., also Wirkung: $^1/_2$ Proc.
Staphylococcus pyogenes aureus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 Minuten	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20 „	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+
60 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Nährboden: Schräges Agar.									
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20 „	—	—	—	±	±	±	±	±	±	±
60 „	—	—	—	±	±	±	±	±	±	±

Tabelle Xc. **Paracresol.** Zusatz: 1 Proc., also Wirkung: $^1/_2$ Proc.
Staphylococcus pyogenes aureus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 Minuten	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20 „	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
60 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Nährboden: Schräges Agar.									
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20 „	—	—	—	±	±	±	+	+	+	+
60 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle Xd. **Tricresol.** Zusatz: 1 Proc., also Wirkung: $^1/_2$ Proc.
Staphylococcus pyogenes aureus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20 „	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+
60 „	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20 „	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Den Staphylococcus pyogenes aureus tödtet in dieser Concentration das Metacresol nach 20 Minuten ab; ihm zunächst kommt an Wirkung das Paracresol, welchem die Abtödtung erst nach 60 Minuten gelingt. Viel schwächer wirken Ortho- und Tricresol.

Aus den Resultaten dieser zwei Versuche geht wiederum deutlich hervor, dass das Metacresol am stärksten wirkt von den vier verwendeten Präparaten; ihm an Wirkung zunächst kommt das Paracresol. Ortho- und Tricresol sind einander so ziemlich gleichwerthig; sie wirken erheblich schwächer als Metacresol.

Bei allen den angegebenen Versuchen arbeitete ich mit wässerigen Aufschwemmungen der Bakterien. In diesen kann das zugesetzte Desinfectionsmittel innig in Berührung treten mit den darin enthaltenen Mikroorganismen und seine volle Wirkung entfalten, da das sterile destillirte Wasser keinerlei Bestandtheile enthält, mit welchen das Desinfectionsmittel in chemische Bindung treten kann, wodurch seine Wirkung abgeschwächt bezw. aufgehoben wird. Um zu sehen, ob in Fleischbrühe die Verhältnisse in Beziehung auf die desinficirende Kraft gleich sind, machte ich bei diesen drei Mikroorganismen folgenden Versuch:

Ich verwendete von den schon erwähnten sporenfreien Mikroorganismen 24 Stunden alte Fleischbrüheculturen, welche bei 37° im Brutschrank gewachsen waren, mit Ausnahme des Bacillus prodigiosus, den ich bei 22° gehalten hatte. Die Menge der zur Cultur benützten Fleischbrühe betrug 5 ccm; die hierbei verwendeten Reagensgläser waren von mässiger Weite. Zu diesen Culturen setzte ich die gleiche Quantität, also 5 ccm, der 2 procentigen wässerigen Lösung des betreffenden Desinfectionsmittels, so dass dasselbe 1 procentig zur Wirkung kam. Aus diesen gut durchgeschüttelten Mischungen wurde nach bestimmten Zeiträumen je eine immer gleich bleibende Oese entnommen und in 10 ccm Fleischbrühe und schräges Agar übergeimpft. Das weitere Verfahren war ganz analog wie bei den Aufschwemmungen mit sterilem Wasser.

Die Resultate sind ersichtlich aus den Tabellen XI, XII, XIII.

Tabelle XIa.

Metacresol. Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Procent.
Staphylococcus pyogenes aureus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XIb. **Orthocresol.** Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Proc.

Staphylococcus pyogenes aureus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XIc. **Paracresol.** Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Proc.

Staphylococcus pyogenes aureus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XId.

Tricresol. Zusatz 2 Procent, also Wirkung: 1 Procent.

Staphylococcus pyogenes aureus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XIIa. **Metacresol.** Zusatz: 2 Proc., also Wirkung: 1 Proc.

Bacillus prodigiosus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XIIb. **Orthocresol.** Zusatz: 2 Proc., also Wirkung: 1 Proc.

Bacillus prodigiosus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XIIc.

Paracresol. Zusatz: 2 Procent, also Wirkung: 1 Procent.

Bacillus prodigiosus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nährboden: Schräges Agar.										
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XIId. **Tricresol.** Zusatz: 2 Proc., also Wirkung: 1 Proc.

Bacillus prodigiosus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nährboden: Schräges Agar.										
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XIIIa. **Metacresol.** Zusatz: 2 Proc., also Wirkung: 1 Proc.

Bacillus pyocyaneus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nährboden: Schräges Agar.										
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—



Tabelle XIIIb.

Orthocresol. Zusatz: 2 Procent, also Wirkung 1 Procent.

Bacillus pyocyaneus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach									
	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nährboden: Schräges Agar.										
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	.
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XIIIc. **Paracresol.** Zusatz: 2 Proc., also Wirkung: 1 Proc.

Bacillus pyocyaneus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nährboden: Schräges Agar.										
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XIIId. **Tricresol.** Zusatz: 2 Proc., also Wirkung: 1 Proc.

Bacillus pyocyaneus. Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Nährboden: Schräges Agar.										
1 Minute	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 Minuten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Aus diesen Tabellen (XI, XII, XIII) ist ersichtlich, dass die Wirkung der Cresole durch die Fleischbrühe in keiner Weise beeinträchtigt wird. Dieselben tödten 1 procentig die sämmtlichen angegebenen Bakterien in einer Minute ab, also gerade so schnell wie bei den wässerigen Aufschwemmungen.

Nachdem so durch diese verschiedenen Versuche festgestellt war, dass gegen die angegebenen vegetativen Mikroorganismen die Cresole eine bedeutende desinficirende Wirkung besitzen, war es von Interesse, zu erfahren, wie sich die Wirkung dieser Präparate den sporenhaltigen Bakterien, speciell dem Bacillus anthracis gegenüber gestaltet. Die Anordnung des Versuches war beim Milzbrandbacillus folgende: Die Culturen des Bacillus anthracis waren bei 37° im Brutschrank auf schrägem Agar gewachsen. Nachdem ich mich durch mikroskopische Präparate überzeugt hatte, dass Sporen in grosser Anzahl vorhanden waren, schabte ich den Belag dieser Agarculturen von der Oberfläche mit einer starken Platinöse ab und stellte damit in sterilem Wasser eine Aufschwemmung her. Um die gröberen Partikelchen zu entfernen, filtrirte ich diese Aufschwemmung durch sterile Glaswolle; hierauf legte ich kleine Deckgläschen auf eine horizontale sterile Glasplatte. Zuvor hatte ich dieselben fettfrei gemacht durch: 1. Kochen in 1 procent. Sodalösung, 2. Kochen in 5 procent. Salzsäurelösung, 3. zweimaliges Schütteln in Alkohol, 4. zweimaliges Schütteln in Aether, worauf die Sterilisirung im Trockenofen und in einer Petrischale erfolgte. Auf jedes dieser derart behandelten Deckgläschen brachte ich mit einer Pipette einen abgemessenen Tropfen (0·02 ccm) dieser Aufschwemmung; mit einer Glasglocke bedeckt, liess ich die Gläschen bis zum gänzlichen Eintrocknen des Tropfens auf der Nivellirplatte liegen, wodurch die eingetrocknete Schicht überall gleichmässig stark war. Damit das Austrocknen schneller vor sich ging, stellte ich unter die Glasglocke eine Schale mit concentrirter Schwefelsäure. Nachdem die Gläschen ganz trocken waren, brachte ich sie in die verschiedenen Desinfectionslösungen. Nach bestimmten Zeiträumen — von Tag zu Tag — entnahm ich diesen Lösungen mit steriler Pincette je ein Deckgläschen, spülte in sterilem Wasser die anhängende Schicht des Desinfectionsmittels ab und legte das Deckgläschen in ein Reagensröhrchen, das 5 ccm Fleischbrühe enthielt. Diese beobachtete ich im Brutschrank bei 37° auf ein eventuelles Wachsthum des Milzbrandbacillus. Für den Fall, dass die Fleischbrühe steril blieb, brachte ich in dieselbe einen virulenten Milzbrandseidenfaden, um zu sehen, ob der Nährboden für das Wachsthum günstig ist, bezw. ob derselbe das Sterilsein verursacht hatte.

Sämmtliche Präparate, mit Ausnahme des Phenols, kamen 2 procent. zur Anwendung. Um die Widerstandskraft der Milzbrandsporen festzu-



stellen, benutzte ich eine 5 procent. Phenollösung. Nach 26 Tagen hatte dieselbe die Sporen noch nicht abgetödtet.

Da beim Abspülen der Desinfectionsflüssigkeit von den Deckgläschen immer etwas von der aufgetrockneten Schicht mitgeschwemmt wurde, so brachte ich zur Controle nicht desinficirte, ebenfalls so vorbehandelte Deckgläschen in steriles Wasser, nahm sie nach den gleichen Intervallen heraus und verbrachte die Gläschen nach der Abspülung in sterilem Wasser in 5 ccm Fleischbrühe, welche ich ebenfalls auf eventuelles Wachsthum beobachtete.

Alle diese verwendeten Präparate: Meta-, Ortho-, Para- und Tricresol, sowie Guajakol und Phenol hatten die Sporen des Bacillus anthracis nach 26 tägiger Einwirkung noch nicht abzutödten vermocht. Bei den drei isomeren Cresolen bemerkte ich nach 20 tägiger Einwirkung ein etwas schwächeres Wachsthum der Milzbrandbacillen als in den Controlröhrchen, während bei Tricresol und Guajakol die Entwickelung ebenso stark war wie in den Controlröhrchen. Eine eigentlich baktericide Wirkung der Cresole gegenüber dem Bacillus anthracis konnte also hier nicht constatirt werden.

Scheuerlen, ferner Krönig und Paul, sowie Andere haben gezeigt, dass durch Zusatz von Kochsalz die desinficirende Kraft der Phenollösungen wesentlich gesteigert werden könne. Zu meinen Versuchen in dieser Hinsicht wählte ich das Metacresol, das sich von den untersuchten Cresolen als das stärkste erwiesen hat.

Ich setzte zu $^1/_2$ procentig. Metacresollösungen verschiedene Gewichtsmengen von Natr. chloratum. Es zeigte sich hierbei, dass Lösungen von 0·5 Metacresol, 18·0 Natr. chloratum und 100·0 Aq. dest. bei kurzem Schütteln vollkommen klar sind; sobald jedoch mehr als 18·0 Natr. chloratum zugesetzt werden zu 100 ccm $^1/_2$ procent. Metacresollösung, so erfolgt keine Lösung, sondern das Metacresol bleibt ausgefällt suspendirt in Form von kleinsten, gelben Oeltröpfchen, so dass dadurch die Flüssigkeit milchglasartig getrübt erscheint. Diese Trübung verschwindet sofort, und das Metacresol geht in Lösung über, sobald die Flüssigkeit auf 50° erwärmt wird. Jedoch darf der Kochsalzzusatz nicht mehr als 22·0 in 100·0 Aqua dest. betragen, sonst erfolgt durch das Erwärmen keine Lösung mehr. Wenn die Lösung erkaltet, so fällt das Metacresol sofort wieder aus. Um also vollkommen klare Lösungen zu erhalten, darf nicht mehr als 18·0 Natr. chloratum zu 100 ccm einer $^1/_2$ procent. Metacresollösung zugesetzt werden. In der Concentration der Metacresollösung noch tiefer herabzugehen, empfiehlt sich nicht, da sonst die Wirkung derselben an und für sich zu sehr abgeschwächt ist.

Da es von Interesse ist, zu erfahren, in welcher Menge höher procentigen Metacresollösungen Kochsalz zugesetzt werden darf, so machte



ich auch in dieser Richtung einige Versuche. Es zeigte sich hierbei, dass 10·0 Natr. chloratum, 1·0 Metacresol und 100·0 Aq. dest. eine klare Lösung nach kurzem Schütteln geben. Bei Zusatz von 15·0 Natr. chloratum zur 1 procent. Metacresollösung erfolgt keine Lösung mehr, sondern die Flüssigkeit erscheint milchig getrübt durch das in Form von kleinsten, gelben Oeltröpfchen suspendirte Metacresol. 3·0 Natr. chloratum, 2·0 Metacresol und 100·0 Aq. dest. geben nach kurzem Schütteln eine klare Lösung; bei Zusatz von 5·0 Natr. chloratum zur 2 procent. Metacresollösung erfolgt keine Lösung mehr.

In den folgenden Versuchen verwendete ich $^1/_2$ procent. Metacresollösungen, da die 1 procent. Lösungen an sich schon so stark wirken, dass sie ohne jeglichen Zusatz für die Praxis bestehen können. Zum Vergleich zog ich eine 18 procent. Kochsalzlösung hinzu, sowie eine $^1/_2$ procent. Metacresollösung ohne jeden Zusatz.

Die Resultate sind ersichtlich aus den Tabellen XIV, XV, XVI, XVII, XVIII.

Tabelle XIV.

Metacresol. Zusatz: $^1/_2$ Proc. (ohne Beimischung) also Wirkung: $^1/_4$ Proc.

Staphylococcus pyogenes aureus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+



Tabelle XV.

18 procent. **Kochsalzlösung.**

Staphylococcus pyogenes aureus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle XVI.

Lösung: von 10·0 **Natr. chlorat.**, 0·5 **Metacresol**, 100·0 **Aq. dest.**

Staphylococcus pyogenes aureus.

Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle XVII.

Lösung von: 15·0 **Natr. chlorat.,** 0·5 **Metacresol,** 100.0 **Aq. dest.**
Staphylococcus pyogenes aureus.
Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	Nach 24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60 „	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle XVIII.

Lösung von: 18·0 **Natr. chlorat.,** 0·5 **Metacresol,** 100·0 **Aq. dest.**
Staphylococcus pyogenes aureus.
Nährboden: Fleischbrühe.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 „	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nährboden: Schräges Agar.

Dauer der Einwirkung	24 St.	2 T.	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.	7 T.	8 T.	9 T.	10 T.
1 Minute	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 Minuten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 „	±	±	±	±	+	+	+	+	+	+
10 „	—	0	0	0	0	0	±	±	±	±
60 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Als Versuchsmikroorganismus verwendete ich den Staphylococcus pyogenes aureus, der von den vegetativen Formen verhältnissmässig resistent ist und als Eitererreger für die Desinfection in der Praxis grosse Bedeutung besitzt.



Aus diesen Tabellen geht hervor, dass der Zusatz von Kochsalz bis zu 10·0 die Wirkung der $^1/_2$ procent. Metacresollösung in gar keiner Weise beeinflusst. Erst bei Zusatz von 15·0 Natr. chlorat. wird eine verhältnissmässig geringe Steigerung der Desinfectionskraft beobachtet. Jedoch durch Zusatz von 18·0 Natr. chloratum zur $^1/_2$ procent. Metacresollösung wird die baktericide Kraft derselben wesentlich erhöht. Der Staphylococcus pyogenes aureus wird von dieser Lösung nach einer einstündigen Einwirkung abgetödtet, und zwar ist der Versuch gleich ausgefallen bei Verwendung von festen und flüssigen Nährböden. Die reine $^1/_2$ procent. Metacresollösung übt diese Wirkung nach einer Stunde Einwirkungszeit nicht aus.

Hier ist ein wesentlicher Unterschied Seitens des Metacresols zu constatiren gegenüber dem Phenol, bei welchem ein verhältnissmässig geringer Zusatz von Kochsalz genügt, um die baktericide Kraft zu erhöhen. Um jedoch bei Metacresol in $^1/_2$ procent. Lösungen eine erhebliche Steigerung der Desinfectionskraft zu erzielen, muss ein bedeutender Zusatz von Kochsalz gemacht werden, und zwar die höchste Dosis, bei welcher überhaupt noch eine klare Lösung bewirkt werden kann. Für die Desinfection in der Praxis hat selbstverständlich auf Grund dieser Versuche der Zusatz von Kochsalz zu den $^1/_2$ procent. Metacresollösungen keinerlei Bedeutung.

Fasse ich nun die Resultate meiner Versuche kurz zusammen, so komme ich zu folgendem Schlusse:

1. Gegenüber dem Milzbrandbacillus und seinen Sporen sind die sämmtlichen untersuchten Präparate: Metacresol, Orthocresol, Paracresol, Tricresol, Phenol und Guajakol gleich unwirksam; sie haben in 2 procent. Lösung die Sporen desselben nach 26 tägiger Einwirkung nicht abzutödten vermocht.

2. Die Cresole übertreffen das Phenol und Guajakol bedeutend an desinficirender Wirkung gegenüber den vegetativen Mikroorganismen: Staphylococcus pyogenes aureus, Bacillus pyocyaneus und Bacillus prodigiosus.

3. Unter den Cresolen wirkt am stärksten gegen alle diese angegebenen Mikroorganismen das Metacresol Hauff. Nach ihm kommt das Paracresol; Orthocresol und Tricresol wirken ziemlich gleich, sie kommen erst in dritter Linie.



4. Unter den isomeren Cresolen ist das giftigste Präparat das Paracresol; am ungiftigsten wirkt das Metacresol.

5. Der Zusatz von 18·0 Natr. chloratum zu einer $^1/_2$ procent. Metacresollösung steigert die desinficirende Wirkung derselben erheblich; für die praktische Anwendung eignet sich jedoch dieser hohe Kochsalzzusatz nicht; geringere Gaben von Kochsalz haben keine Einwirkung.



Die Anwendung des Metacresol Hauff in der Praxis als Desinfectionsmittel ist zu empfehlen, und zwar aus folgenden Gründen:

1. Das Metacresol ist an desinficirender Kraft dem Phenol bedeutend überlegen.

2. Das Metacresol Hauff ist nicht so giftig wie die Carbolsäure.

3. Die 2 procent. wässerigen Lösungen des Metacresols sind klar und greifen Hände und Instrumente nicht an. Diese Lösungen besitzen einen ganz geringen Geruch.

Zum Schlusse sei es mir vergönnt, dem Hrn. Geh. Medicinalrath Prof. Dr. Gaffky meinen herzlichen Dank auszusprechen für die liebenswürdige und freundliche Unterstützung, die ich von seiner Seite erfahren durfte bei Abfassung dieser Arbeit.



[Aus der II. medicinischen Universitätsklinik zu Berlin.]
Director: Geheimrath Prof. Dr. Gerhardt.

Ueber die Bedeutung der Milz bei künstlichen und natürlichen Infectionen.[1]

Von

Dr. **Ludwig Blumreich** und Dr. **Martin Jacoby**.

Es ist lange bekannt, dass die Milz bei vielen Infectionskrankheiten anschwillt und histologische Veränderungen aufweist. Ob das Organ indessen bei diesen Krankheiten irgend eine besondere Function zu erfüllen hat und welche, darüber herrscht noch keineswegs Klarheit.

Wir haben versucht, zur Klärung dieser Frage durch experimentelle Untersuchungen beizutragen und gingen davon aus, den Ablauf von Infectionen nach Exstirpation der Milz an Thieren zu studiren.

Die Mittheilung unserer Versuche und die Besprechung einiger theoretischer Punkte werden wir am besten in folgenden Abschnitten bringen.

I. Das Verhalten der Thiere nach der Milzexstirpation.

II. Verlauf künstlicher Infectionen bei entmilzten Thieren gegenüber normalen.

III. Einfluss der Milzexstirpation auf den Verlauf künstlicher bakterieller Intoxicationen.

IV. Hat die Unterbindung der Milz (Entfernung aus der Blutbahn) die gleichen Folgen wie die Exstirpation der Milz?

V. Die Bactericidität des Blutes nach der Entmilzung.

VI. Das Verhalten der weissen Blutkörperchen nach der Entmilzung.

VII. Die Function der Milz bei Infectionskrankheiten.

[1] Ueber die Resultate, soweit sie die Versuche betreffen, haben wir bereits in einem Vortrage in der Gesellschaft der Charitéärzte am 6. V. 1897 kurz berichtet. Vgl. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1897. Nr. 21.



I. Das Verhalten der Thiere nach der Milzexstirpation.

Wir verwandten zu unseren Versuchen ausschliesslich Meerschweinchen von durchschnittlich 200 grm Gewicht. Es wurde, wie aus den Tabellen ersichtlich ist, Werth darauf gelegt, dass bei den Experimenten sich stets Versuchs- und Controlthiere von möglichst gleichem Gewicht gegenüberstanden. Die Operationen wurden unter genauer Beobachtung aller aseptischen Cautelen vorgenommen. Zur Narcose verwandten wir meistens Chloroform, selten Aether. Man muss bei der Chloroformirung äusserste Vorsicht walten lassen, denn die Thiere brauchen eine ziemliche Quantität des Betäubungsmittels, bevor sie operationsfähig werden und sie sterben, wenn man die Dosis auch nur um ein Geringes überschreitet. Ja auch bei grösster Vorsicht fällt hin und wieder ein Thier der Narcose zum Opfer. Nach Aetherbetäubung erkrankten und starben die Thiere zu häufig an Pneumonie, so dass wir die Versuche damit bald aufgaben.

Die Thiere wurden ungefesselt operirt, so dass eine etwaige „Abkühlung durch die Fesselung" und daraus resultirende Fehlerquellen vermieden wurden.

Die Schnittrichtung wird am besten so gewählt, dass man unterhalb des linken Rippenbogenrandes 1 cm lateral vom Processus xiphoideus beginnt und das Messer ungefähr 3 cm nach hinten führt. Bei richtiger Schnittführung liegt in der kleinen Peritonealwunde eine kleine Partie des Mesenteriums der Milz vor, an dem man das Organ aus der Bauchhöhle herausgeleiten kann. Die Därme werden dabei möglichst mit warmen Tupfern zurückgehalten, die Milz wird an ihrem Stiel vorsichtig soweit herausgezogen, dass man um die Gefässe eine Doppelligatur legen und die Milz abschneiden kann. Nach Versenkung des Stiels und etwa vorgefallener Därme wird die Wunde durch eine Muskel- und eine Hautnaht geschlossen.

Der Blutverlust bei der Operation ist ein so geringer, dass er ohne Zweifel sehr schnell ausgeglichen werden kann.

Die Heilung der Wunde verlief nahezu stets reactionslos, die Thiere erholten sich sehr schnell und nahmen theilweise erheblich an Gewicht zu. Ein kleiner Procentsatz der Thiere starb in den ersten Tagen nach der Operation, aber in allen diesen Fällen war der Tod durch Complicationen (Vereiterung der Wunde, Darmquetschung, Pneumonie nach Aethernarcose u. s. w.) hinreichend erklärt.

Man darf daher sagen, dass — innerhalb der Beobachtungszeit von einigen Wochen — die Milzexstirpation keinen ohne weiteres erkennbaren schädlichen Einfluss auf die Gesundheit und Lebensprognose der Thiere ausübt.



II. Verlauf künstlicher Infectionen bei entmilzten Thieren gegenüber normalen.

An den entmilzten Thieren versuchten wir festzustellen, ob ihre Resistenz gegenüber künstlichen Infectionskrankheiten verändert war. Wir gingen dabei so vor, dass wir die Wirkung der Bakterien und ihrer Toxine besonders studirten. Die Thiere verhielten sich nun in beiden Fällen durchaus verschieden, so dass wir beide Gruppen in getrennten Capiteln besprechen müssen.

Bei unserem ersten Versuch wandten wir Diphtheriebakterien an. Durch Vorversuche wurde also in kurzer Zeit sichertödtliche Dosis eine Oese festgestellt.

Bei dem eigentlichen Versuch standen sich 6 normale und 6 entmilzte Thiere gegenüber. Alle erhielten subcutan je eine Oese einer 24stündigen Agarcultur in je 1 ccm Bouillon vertheilt. Die Mischung wurde, um eine möglichst gleichmässige Vertheilung herzustellen, in der Art vorgenommen, dass die für die ganze Versuchsreihe erforderliche Oesenzahl in der entsprechenden Bouillonquantität zusammen verrieben wurde.

Aus den Tabellen wird hervorgehen, dass die Versuchsthiere die Milzexstirpation gut überstanden hatten, indem sie meist sogar an Gewicht darnach zugenommen hatten. Nach Möglichkeit stellten wir den Versuchsthieren Controlthiere von gleichem Gewicht gegenüber.

Tabelle I.

Alle Thiere erhalten am 24. XI. 1896 $8^1/_2$ Uhr Abends je eine Oese einer 24stündigen Diphtherieglycerin-Agarcultur in je 1 ccm Bouillon.

Fortl Nr.	Entmilzte Thiere				Normale Thiere	
	Zeit nach der Entmilzg. in Tagen	Gewicht bei der Entmilzg. in grm	Gewicht bei der Spritzung in grm	Tod nach Spritzung in Stunden	Gewicht bei Spritzung in grm	Tod nach Spritzung in Stunden
1	11	182	209	43	195	21
2	16	203	215	24—35	207	44
3	16	226	$217^1/_2$	48—60	216	$37^1/_2$
4	18	199	239	48—60	217	$38^1/_2$
5	11	244	242	48	231	37
6	16	226	242	48—60	234	24—35
	Durchschnittlich 47·1 Stunden.				Durchschnittl. 34·6 Std. [1]	

[1] Bei der Durchschnittsberechnung wurden immer die Mittelzahlen angenommen.



Von den drei Möglichkeiten, welche für den Ausfall dieses Experimentes a priori gegeben waren — dass die entmilzten Thiere sich entweder schlechter, gleich oder besser als die normalen Thiere verhielten — war die naheliegendste wohl sicherlich die erste. Denn abgesehen davon, dass die Thiere durch eine eingreifende Operation empfindlich in ihrer Widerstandsfähigkeit geschädigt sein konnten, durfte man erwarten, dass der Fortfall eines als Abwehrmittel gegen Infectionsträger allgemein angesehenen Organs eine wesentliche Schädigung für die Thiere bedeuten würde.

Diese theoretische Schlussfolgerung wurde jedoch nicht durch die Thatsachen verificirt. Denn zum Mindesten geht aus Tabelle I hervor, dass die entmilzten Thiere die Diphtherieinfection nicht schlechter ertrugen, als die normalen.

Ja man kann sogar aus der Tabelle die Anschauung herleiten, dass die entmilzten Meerschweinchen resistenter waren als die Controlthiere. War dieser Unterschied auch nicht gross, so war er doch auffallend genug, um zu weiteren Versuchen aufzufordern. Da, wie wir noch zeigen werden, spätere Experimente in ganz unzweideutiger Weise nach derselben Richtung hin ausfielen, so gewinnen auch schon diese verhältnissmässig kleinen Differenzen an Bedeutung.

Wir wollen jetzt erst einen Versuch bringen, dessen Resultate anscheinend einigermassen aus der Reihe fallen; die Erklärung hierfür wird sich später ergeben.

Tabelle II.

Alle Thiere erhalten subcutan am 4. I. 1897 6 Uhr Abends $^1/_4$ Oese einer 24stündigen Milzbrand-Agarcultur in je 1 ccm Bouillon verrieben.

Fortl. Nr.	Entmilzte Thiere				Normale Thiere[1]	
	Zeit nach der Entmilzg. in Tagen	Gewicht bei der Entmilzg. in grm	Gewicht bei der Spritzung in grm	Tod nach der Spritzung in Stunden	Gewicht bei der Spritzung in grm	Tod nach Spritzung in Stunden
1	20	185	163	$48^1/_4$	177	$49^1/_4$—$61^1/_4$
2	25	185	183	38—$39^1/_2$	179	$49^1/_4$—$61^1/_4$
3	13	185	190	bleibt am Leben[2]	182	39
4	26	240	211	$46^3/_4$	183	$45^1/_2$
5	25	210	217	$41^1/_2$	187	$61^1/_4$
6	25	288	224	$49^3/_4$—$61^3/_4$	196	42

[1] Hierzu kommen 2 normale Thiere, welche am 2. I. 1897 11h Vorm. $^1/_8$ bezw. $^1/_4$ Oese erhielten und nach 56—68 bezw. 47 Stunden starben.

[2] Wird am 24. II. 1897 (51 Tage nach der Spritzung) bei 300grm Gew. getödtet.

Tabelle II. (Fortsetzung.)

Fortl. Nr.	Entmilzte Thiere				Normale Thiere	
	Zeit nach der Entmilzg. in Tagen	Gewicht bei der Entmilzg. in grm	Gewicht bei der Spritzung in grm	Tod nach der Spritzung in Stunden	Gewicht bei der Spritzung in grm	Tod nach Spritzung in Stunden
7	26	222	225	$67-70\frac{1}{2}$	196	$49\frac{1}{4}-61\frac{1}{4}$
8	20	212	226	$48\frac{1}{2}$	200	$48\frac{1}{2}$
9	24	217	230	$49\frac{3}{4}-61\frac{3}{4}$	234	$49\frac{1}{4}-61\frac{1}{4}$
10	25	225	235	$46\frac{3}{4}$	264	$49\frac{1}{4}-61\frac{1}{4}$
11	24	246	251	$49\frac{3}{4}-61\frac{3}{4}$	265	$49\frac{1}{4}$ $61\frac{1}{4}$
12	23	221	257	$49\frac{3}{4}-61\frac{3}{4}$	273	$39\frac{1}{4}$

Berechnen wir den Durchschnitt der Lebensdauer der entmilzten und normalen Meerschweinchen nach der Infection, so ergiebt sich für die entmilzten Thiere -- hierbei ist natürlich das eine überlebende Thier (Nr. 3) ausser Rechnung geblieben — eine Durchschnittsziffer von 51 Stunden, für die Controlthiere eine solche von 50 Stunden. Also ist als Resultat dieser Versuchsreihe zu constatiren, dass beide Gruppen die Infection gleich schlecht vertragen haben; auf das überlebende Thier aus der Kategorie der entmilzten Meerschweinchen legen wir natürlich keinen Werth; ob irgend welche besondere Verhältnisse hier mitgespielt haben, lässt sich ja nicht entscheiden. Immerhin muss betont werden, dass auch gegenüber der Milzbrandinfection die Entmilzung das Ende der Thiere nicht beschleunigt hat.

Zu unseren nächsten Infectionsversuchen verwandten wir Pyocyaneusculturen. Hier stehen uns drei Versuchsreihen zur Verfügung, die wir in den Tabellen III bis V wiedergeben.

Tabelle III.

Alle Thiere erhalten am 28. I. 1897 5 Uhr Nachm. je $\frac{1}{2}$ Oese einer 18stündigen Pyocyaneusagarcultur, gelöst in je 1 ^{ccm} Bouillon.

Fortl. Nr.	Entmilzte Thiere				Normale Thiere	
	Zeit nach Entmilzg. in Tagen	Gewicht b. Entmilzg. in grm	Gewicht b. Spritzung in grm	Todeszeit in Stunden	Gewicht bei Spritzung in grm	Todeszeit in Stunden
1	14	161	159	bleibt leben	176	† 52—55
2	5	205	185	„	177	bleibt leben
3	17	196	192	„	196	† 62
4	19	163	203	† 99—109	197	bleibt leben
5	20	192	220	bleibt leben	199	† 52—55
6	50	197	231	„	230	bleibt leben
7	22	210	252	„	253	† $14\frac{1}{2}$
8	50	180	277	„		

Tabelle IV.

Alle Thiere erhalten am 1. II. 1897 $5^1/_4$ Uhr Nachm. je 1 Oese einer 18stündigen Pyocyaneus-Agarcultur in je 1 ccm Bouillon.

F. Nr.	Zeit nach Entmilzung in Tagen	Gewicht bei Entmilzung in grm	Gewicht bei Spritzung in grm	Todeszeit	Bemerkungen Gewichtsverhältnisse	
			Entmilzte Thiere.			
1	9	247	245 (1. II.)	bleibt leben	5. II.	267 grm
					8. II.	274 „
					10. II.	292 „
					25. II.	323 „
2	6	283	271 (1. II.)	bleibt leben	5. II.	288 „
					8. II.	312 „
					10. II.	320 „
					25. II.	356 „
			Normale Thiere.			
1			206 (1. II.)	bleibt nach längerer Krankheit leben	3. II. sehr krank 4. II. lässt sich auf die Seite legen.	
					5. II.	165 grm
					6. II.	172 „
					8. II.	183 „
					10. II.	189 „
					12. II.	192 „
					24. II.	217 „
2			206	† nach 66 Std.		

Tabelle V.

Alle Thiere erhalten am 27. II. 1897 $^3/_4$6 Uhr Nachm. je 2 Oesen einer 20stündigen Pyocyaneus-Agarcultur in je 1 ccm Bouillon.

F. Nr.	Zeit nach Entmilzung in Tagen	Gewicht bei Entmilzung in grm	Gewicht bei Spritzung in grm	Todeszeit	Bemerkungen Gewichtsverhältnisse	
			Entmilzte Thiere.			
1	25	243	316 (27. II.)	bleibt leben	1. III.	279 grm
					2. III.	309 „
					4. III.	330 „
2	8	656	572 (27. II.)	„	1. III.	570 „
					2. III.	588 „
					4. III.	610 „
3	16	516	634 (27. II.)	„	1. III.	550 „
					2. III.	592 „
					4. III.	604 „
4	8	668	673 (27. II.)	„	1. III.	505 „
					2. III.	630 „
					4. III.	650 „

Normale Thiere.

Fortl. Nr.	Gew. b. Spritz. in grm	Todeszeit in Stunden	Bemerkungen
1	246 (27. II.)	† 27—36	
2	470 (27. II.)	† 75—84	1. III. 406 grm, sehr matt. 2. III. 376 „ lässt sich auf die Seite legen.
3	603 (27. II.)	† 51—60	1. III. 546 „ äusserst matt.

Wenn wir zunächst das Ergebniss der einzelnen Versuchsreihen für sich einer gesonderten Betrachtung unterziehen, so ergiebt sich aus der ersten, dass von 8 entmilzten Thieren nur ein einziges starb und zwar erst nach über 100 Stunden, während von 7 normalen Meerschweinchen 4 der Infection erlagen, und zwar zwischen 14 und $16^1/_2$ Stunden.

Bei dem zweiten Experiment blieben die entmilzten Thiere von Anfang an gesund und nahmen continuirlich an Gewicht zu, während von den nicht operirten das eine nach 66 Stunden starb, das andere, wie aus den Protocollangaben und den Gewichtsverhältnissen ersichtlich — sehr schwer krank war und sich erst ganz allmählich erholte.

Ein ganz unzweideutiges Resultat lieferte endlich der in Tabelle V wiedergegebene Versuch. Alle 4 entmilzten Thiere blieben am Leben, alle 3 normalen Thiere starben nach kurzer Frist.

Im Ganzen starb uns also von 14 entmilzten Thieren nur ein einziges,[1] während von 12 normalen 8 starben und ein neuntes sehr schwer krank war. Eine grössere Zahl von normalen Thieren, die wir in Vorversuchen mit den gleichen Dosen spritzten, starben ebenfalls sehr schnell und sind also geeignet, den von uns beobachteten Unterschied noch klarer zu demonstriren.

Auch mit Cholerabakterien haben wir drei Reihen von Versuchen angestellt, deren Resultate sich in den Tabellen VI bis VIII finden.

Tabelle VI.

Alle Thiere erhalten am 25. II. 1897 $10^3/_4$ Uhr Vorm. $^1/_8$ Oese einer 18stündigen Cholera-Agarcultur intraperitoneal in je 1 ccm Bouillon gelöst.

Fortl. Nr.	Entmilzte Thiere				Normale Thiere	
	Zeit nach Entmilzg. in Tagen	Gewicht bei Entmilzung in grm	Gewicht bei Spritzung in grm	Todeszeit in Stunden	Gewicht b. Spritzung in grm	Todeszeit in Stunden
1	34	247	323	bleiben leben und andauernd munter	223	10—$18^1/_2$
2	31	283	356		351	24

[1] Ein 15tes entmilztes Thier starb nach ganz kurzer Zeit; die Ursache war sehr ersichtlich: wir hatten, wie sofort hervorquillendes Blut anzeigte, aus Versehen in eine Vene gespritzt.



Tabelle VII.

Alle Thiere erhalten am 28. II. 1897 11 Uhr Vorm. je $^1/_8$ Oese einer 18stündigen Cholera-Agarcultur intraperitoneal in je 1 ccm Bouillon gelöst.

Fortl. Nr.	Entmilzte Thiere				Normale Thiere	
	Zeit nach Entmilzg. in Tagen	Gewicht bei Entmilzg. in grm	Gewicht bei Spritzung in grm	Todeszeit	Gewicht bei Spritzung in grm	Todeszeit in Stunden
1	6	196	199	bleibt leben	191	10—19
2	20	173	213	„	203	10—19
3	20	174	214	10—19 Std.	205	10—19
4	26	189	225	10—19 „	223	10—19
5	6	254	247	$28^1/_2$ „	234	10—19
6	6	294	277	bleibt leben	260	10—19

Tabelle VIII.

Alle Thiere erhalten am 9. III. 1897 Vorm. $^1/_2$12 Uhr je $^1/_8$ Oese einer 28stündigen Cholera-Agarcultur intraperitoneal in je 1 ccm Bouillon gelöst.

Fortl. Nr.	Zeit nach Entmilzg. in Tagen	Gewicht bei Entmilzg. in grm	Gewicht bei Spritzung in grm	Todeszeit	Gewicht bei Spritzung in grm	Todeszeit in Stunden
1	7	182	183	bleibt leben	223	58 Std.
2	7	202	198	„	223	120 „
3	7	202	201	„	227	70 „
4	27	199	218	„	228	9—19 „
5	27	161	221	9—19 Std.	238	9—19 „
6	25	180	233	bleibt leben	258	bleibt leben
7	27	192	237	„	282	„
8	25	247	299	„		
9	16	260	313	„		
10	16	285	323	„		

Wir glauben, dass wir den einzelnen Tabellen keinerlei Erläuterungen hinzuzufügen brauchen, da die Resultate ja ganz unzweideutig hervortreten. Als Gesammtresultat ergiebt sich, dass von 18 entmilzten Meerschweinchen 4 starben, während von 15 normalen Thieren 13 zu Grunde gingen.



Entmilzungen und nachherige künstliche Infectionen sind bisher nur von wenigen Autoren vorgenommen worden.

1889 erschien eine Arbeit von Kurlow.[1] Dem Autor ist es nicht gelungen, auf Grund seiner Experimente einen Einfluss der Entmilzung auf den Verlauf von Infectionskrankheiten zu constatiren.

Das kann nicht Wunder nehmen, denn Kurlow stellte regelmässig nur ein entmilztes Thier einem normalen Thier gegenüber und wiederholte den Versuch mit demselben Infectionsmaterial meist nur ein- oder zweimal.

Nur beim Milzbrand liegt eine etwas grössere Versuchsreihe, oder vielmehr eine grössere Zahl von Einzelversuchen vor (je ein normales und ein entmilztes Thier). Auch hier lässt sich erklärlicher Weise mit den Ergebnissen der einzelnen Versuche nichts anfangen.

Wir haben deshalb — analog unseren eigenen Experimenten — Durchschnittsziffern berechnet. Dann ergiebt sich, dass die 8 entmilzten Kaninchen Kurlow's im Mittel nach 30·6 Stunden, die 8 Controlthiere nach 27·3 Stunden an Milzbrand zu Grunde gingen.

Das ist das Resultat, das sich aus Kurlow's Arbeit ableiten lässt, und das passt vorzüglich zu unseren Erfahrungen. Auch wir haben beim Milzbrand kaum einen Unterschied, und wenn, dann höchstens einen geringfügigen zu Gunsten der entmilzten aufgefunden.

Diese Milzbrandversuche sind die einzige einwandsfreie experimentelle Basis für Kurlow's Schlussfolgerungen. Schon ein oberflächlicher Blick auf unsere Tabellen lässt erkennen, dass ein Schluss von Milzbrand auf Infectionskrankheiten im Allgemeinen verfrüht wäre. Das Gleiche gilt für die Arbeiten von Bardach.[2]

Bardach hat zwei grössere Versuchsreihen angestellt, in denen er das eine Mal Hunden, im anderen Falle Kaninchen die Milz exstirpirte und nach einigen Monaten Milzbrand injicirte. Dabei ergab sich das interessante Resultat, dass von 25 entmilzten Hunden 19 starben, von den 25 Controlhunden nur 5. Ebenso gingen von 35 entmilzten Kaninchen 26 zu Grunde, von den Vergleichsthieren kein einziges.

Diese Befunde Bardach's sind sicherlich für unsere Frage nicht ohne Wichtigkeit. Man kann jedoch Bardach keineswegs folgen, wenn er auf seine Ergebnisse eine Theorie der Bedeutung der Milz bei Infectionskrankheiten baut, mit deren Hülfe er das ganze Problem zu lösen versucht. Der Autor stellt sich das Verhältniss so vor, dass durch die Entfernung der Milz das Hauptdepot der Phagocyten aus dem Organismus

[1] *Archiv für Hygiene.* 1889. Bd. IX. S. 450.

[2] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1889 u. 1891.



eliminirt wird und der so seines wichtigsten Kampfmittels gegen Infectionen beraubte Körper den Bakterien erheblich geringeren Widerstand leisten kann.

Im Laufe unserer Arbeit wird sich ohne Weiteres ergeben, dass wir bei Infectionskrankheiten nach Milzexstirpation durchaus nicht mit so einfachen schematischen Verhältnissen zu rechnen haben. Wir können aber hier bereits betonen, dass eine in jeder Beziehung so streng begrenzte Versuchsanordnung, wie Bardach sie gewählt hat, nicht Resultate liefern kann, die allgemeine Gültigkeit beanspruchen dürfen. Bardach hat zunächst mit Hunden und Kaninchen gearbeitet, und es ist natürlich nicht auf alle Fälle gestattet, die hier gewonnenen Resultate auf andere Thierclassen auszudehnen. Wichtiger scheint uns, dass Bardach sich lediglich auf Milzbrandinfectionen beschränkt hat. Wir haben schon erst darauf aufmerksam gemacht, dass gerade diese Bakterienart eine Sonderstellung bei Milzversuchen einzunehmen scheint. Vor Allem müssen wir aber hervorheben, dass sich die Versuche Bardach's durchweg auf Thiere beziehen, bei denen die Milzexstirpation mindestens einen Monat, meist länger, zurücklag.

Die Beschränkung auf Milzbrand und die grosse Frist zwischen Exstirpation und Infection sind also die Factoren, die es nicht erlauben, die Bardach'schen Resultate zu verallgemeinern. Im Uebrigen weist auch Bardach durch eigene Experimente darauf hin, dass seine Versuche an bestimmte Bedingungen gebunden sind. Nur wenn er erwachsene und hinreichend schwere Thiere verwandte, war ein so erheblicher Unterschied zwischen normalen und entmilzten Thieren vorhanden; bei jungen und an Gewicht geringen Thieren starben auch die meisten Thiere der Gruppe, denen die Milz nicht exstirpirt war. Auch die Forderungen Bardach's, bezüglich der Versuchsanordnung sind nicht berechtigt. Bardach verlangt, dass die Bakterien stets intravenös eingespritzt werden sollen und nicht subcutan, um die etwaigen Einwirkungen von Leukocyten und Unterhautzellgewebe auszuschliessen. Diese Forderung ist aber durchaus hinfällig, da es ja lediglich darauf ankommt, beide Gruppen von Thieren in ganz gleicher Weise zu inficiren.

Auch der zweiten Forderung Bardach's, zu solchen Versuchen nur Impfmaterial zu verwenden, gegen das normale Thiere refractär sind, können wir nicht beipflichten. Denn diese Meinung steht im Widerspruch mit den Anschauungen, die in dem ganzen Bereich der experimentellen Bakteriologie Geltung haben. Würde sie zu Recht bestehen, so wären Experimente gerade mit den wichtigsten pathogenen Bakterien ausgeschlossen.



Die Aufstellung dieser beiden Forderungen brachte aber Bardach selbst in einen gewissen Widerspruch. Hunde sind nämlich gegen Milzbrand nur refractär bei subcutanen Injectionen. Da Bardach aber, getreu seiner ersten Forderung, die Bakterien direct in die Blutbahn brachte, erzielte auch er selbst kein refractäres Verhalten. Bardach's Resultat, dass die entmilzten Thiere starben, die normalen am Leben blieben, steht nicht im Widerspruch zu unseren Ergebnissen. Bardach hat mit Thieren experimentirt, die gegen Milzbrand immun sind, daher sind seine normalen Thiere am Leben geblieben.

Wir dagegen haben Thiere genommen, die unter normalen Verhältnissen bei der gewählten Dosis an Milzbrand zu Grunde gehen. Daher mussten unsere normalen Thiere natürlich sterben. Die Entmilzung schützt aber nicht gegen diese Infection, in Folge dessen kamen auch die entmilzten nicht durch. Sicher hätte Bardach mit Meerschweinchen das gleiche Resultat wie wir erhalten. Dafür sprechen auch die Ergebnisse von Martinotti und Barbacci,[1] über die sie kurz berichtet haben. Die Autoren exstirpirten Kaninchen und Meerschweinchen die Milz und inficirten die Thiere nach völliger Genesung mit Milzbrand. Entmilzte und Controlthiere — wie viel von jeder Sorte geben sie nicht an — starben nach derselben Zeit, so dass sie keinen Unterschied constatiren konnten. Unsere Resultate bei Milzbrand stimmen also durchaus mit den ihrigen überein.

Nur ganz kurz brauchen wir hier Mittheilungen von Soudakewitsch[2] und Tictin[3] zu erwähnen.

In einer ersten Versuchsreihe inficirte Soudakewitsch einen entmilzten und einen normalen Affen mit dem Blut eines Rückfalltyphuskranken, in einer zweiten benutzte er einen entmilzten Affen ohne Controlthier. Die entmilzten Thiere starben nach 8 bis 9 Tagen, das normale blieb am Leben. Aber bei der Section des ersten Affen zeigte sich eine hypertrophische Nebenmilz und bei dem zweiten war es nach der Operation zu einer eiterigen Peritonitis gekommen, die der Autor an der Stelle der Milz auffand. Aehnlich verhält es sich mit den Recurrensversuchen bei splenectomirten Affen, die Tictin anstellte. Seine 4 Versuche sind für unsere Frage nicht discutabel. Ein entmilzter Affe hatte offenbar schwere

[1] Martinotti und Barbacci, *Centralblatt für allgemeine Pathologie.* Bd. I.

[2] Soudakewitsch, Recherches sur la fièvre récurrente. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1891. S. 545.

[3] Tictin, Zur Frage über die Bedeutung der Milz bei Febris recurrens. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1894. Bd. XV. — Zur Lehre von Rückfalltyphus. Vorläufige Mittheilung. *Ebenda.* 1897. Bd. XXI.



Lungentuberculose, „hustete und fieberte schon vor der Infection.“ Autopsie: Cavernen in der Lunge und allgemeine Tuberculose, ein zweiter war schon vor der Milzexstirpation immun, im dritten und vierten Versuch (je 1 entmilzter Affe) fehlten die Controlthiere, so dass man nicht wissen kann, ob die injicirte Dosis eine tödtliche war; es lässt sich daher die Thatsache nicht verwerthen, dass die Recurrens bei ihnen einen verhältnissmässig milden Verlauf nahm.

In seiner neuesten Arbeit erwähnt Tictin nur, ohne nähere Angaben zu machen, dass neue Versuche mit den Resultaten der früher publicirten übereinstimmen.

Melnikow-Raswedenkow[1] hat die Resultate von Bardach's Kaninchenversuchen nachgeprüft, geht aber nur auf die Frage der Immunisirungsfähigkeit ein. Aus seiner in deutscher Sprache erschienenen Arbeit — seine russisch geschriebene Dissertation war uns nicht zugänglich — geht weder hervor, wie viel Thiere er entmilzt hat, noch lassen sich die Resultate überblicken.

Zum Schluss noch einige Bemerkungen zu der Mittheilung von Courmont und Duffau.[2] Die Autoren kommen zu folgenden Schlüssen, die wir in deutscher Uebersetzung möglichst wortgetreu wiedergeben: „Man darf nicht zu schnell in der Bakteriologie verallgemeinern. Die Vertheidigungsmittel des Organismus sind nicht bei allen Infectionen dieselben. Es ergiebt sich in der That aus unseren Experimenten, dass die Entmilzung beim Kaninchen während der ersten acht Tage die Widerstandskraft dieses Thieres gegen bestimmte Bakterien verringert (Bacillus pyocyaneus, Staphylococcus pyogenes), während sie die Widerstandskraft verstärkt gegenüber Streptococcus pyogenes.

Es scheint, dass nach Ablauf von 25 Tagen das entmilzte Kaninchen seine äusserste Empfänglichkeit für den Bacillus pyocyaneus besitzt, während es wieder seine gewöhnliche Widerstandskraft gegenüber dem Bacillus Staphylococcus pyogenes wiedergewonnen hat. Das Kaninchen lässt sich 2 bis 29 Tage nach der Entmilzung schlechter als ein nicht operirtes Thier durch eine Impfung mit abgeschwächten Streptokokken immunisiren.

Zu diesen weittragenden Schlüssen fühlen sich die Autoren berufen auf der Grundlage von folgenden Versuchsziffern:

---

[1] Melnikow-Raswedenkow, Zur Frage über die Bedeutung der Milz bei Infectionskrankheiten. *Diese Zeitschrift.* 1896. Bd. XXI.

[2] Courmont et Duffau, Marche des infections expérimentales chez le lapin splenectomisé. *Compt. rend. de la soc. de biol.* Séance du 13 juin 1896. S. 604 bis 607.

Pyocyaneus:

1 vor 2 Tagen entmilztes Kaninchen nebst Controlthier.
1 „ 25 „ „ „ „ „

Staphylococcus pyogenes:

1 vor 1 Tage entmilztes Kaninchen nebst Controlthier.
1 „ 2 „ „ „ „ „
1 „ 25 „ „ „ „ „

Streptococcus pyogenes.

3 entmilzte Thiere (2, 4, 8 Tage nach der Entmilzung) unabgeschwächt nebst 4 Controlthieren.

3 entmilzte Thiere (2, 29, 17 Tage nach der Operation) mit 2 Controlthieren, abgeschwächte Cultur.

Wenn möglich, verlieren diese Versuche noch mehr an Werth, wenn wir hinzufügen, dass alle Thiere an ganz verschiedenen Tagen[1] gespritzt wurden, so dass die gleiche Virulenz des Bakterienmateriales durchaus in Frage gestellt wird.

Aus dem Vergleich zwischen Schlüssen und Versuchen ergiebt sich ohne Weiteres, dass eine Discussion bezüglich der Resultate der Autoren sowohl im Allgemeinen als auch für Pyocyaneus im Besonderen überflüssig ist.

Diese Litteraturübersicht erklärt, warum keine Arbeit vor der unserigen den Verlauf von Infectionskrankheiten nach Milzexstirpation aufgedeckt hat.

Die einen Autoren haben sich mit so kleinen Versuchsziffern begnügt, dass sie unmöglich einwandsfreie Resultate erwarten konnten. Die anderen haben lediglich mit Milzbrand gearbeitet, einem Infectionsmaterial, auf das die Milzexstirpation in der That keinen Einfluss ausübt. Hätten sie wie wir die Milzbrandversuche mit anderen Infectionen verglichen, so hätten sie ohne Zweifel bereits gefunden, dass die Entfernung der Milz aus dem Organismus einen günstigen Einfluss auf den Verlauf von Infectionskrankheiten ausüben kann.

[1] Das bezieht sich auf die Versuchsthiere unter einander; das Controlthier wurde mit dem Versuchsthier am gleichen Tage gespritzt.



III. Einfluss der Milzexstirpation auf den Verlauf künstlicher bakterieller Intoxicationen.

Es war schon bei Beginn unserer Versuche für uns sehr naheliegend, unsere Bakterienexperimente nach Milzexstirpation unter den gleichen Bedingungen in Parallelversuchen auch mit den Toxinen der betreffenden Bakterien anzustellen. Wir haben zu den diesbezüglichen Versuchen die Toxine der Diphtherie und des Bacillus pyocyaneus benutzt.

Der Diphtherietoxinversuch wurde gleichzeitig mit dem Diphtheriebakterienversuch, den wir oben beschrieben haben, vorgenommen.

Tabelle IX.

Alle Thiere erhalten am 24. XI. 1896 7 Uhr Abends je $^1/_{64}$ ccm des Diphtherietoxins,[1] gelöst in je 1 ccm Bouillon.

Fortl. Nr.	Entmilzte Thiere				Normale Thiere	
	Zeit nach der Entmilzg. in Tagen	Gewicht bei Entmilzg. in grm	Gewicht bei Spritzung in grm	Todeszeit	Gewicht bei Spritzung in grm	Todeszeit
1	19	214	247	† nach 36 St.	237	† nach 49 St.
2	11	240	251	† „ 70 „	239	† „ 46 „
3	21	266	264	† zwischen 49 u. 61 Std.	247	† „ 46 „
4	17	247	264	† n. $46^1/_2$ St.	255	† „ 45 „
5	11	297	295	† „ $44^3/_4$ „	266	† „ 49 „
6	23	$275^1/_2$	300	† „ 64 „	267	† zwischen 97 und 112 Std.

Das Gift war so stark gewählt, dass beide Gruppen von Thieren der Intoxication relativ schnell erlagen. Dabei stellte sich keinerlei Unterschied zwischen splenectomirten und normalen Meerschweinchen heraus, der nicht innerhalb der Fehlergrenzen gelegen wäre. Berechnen wir den Durchschnitt, so starben die operirten Thiere nach $52^1/_2$ Stunden, die normalen nach $56^1/_2$.

In zwei weiteren Versuchsreihen stand uns durch die Freundlichkeit des Hrn. Dr. Wassermann ein Pyocyaneustoxin zur Verfügung. Dasselbe war durch Sterilisiren einer virulenten Cultur nach der von Wassermann[2] angegebenen Methode gewonnen.

[1] Das Diphtherietoxin, das wir Hrn. Dr. Blumenthal, Assistenten der ersten med. Klinik, verdanken, war durch Filtration aus einer sehr virulenten Diphtheriebouilloncultur gewonnen worden.

[2] Wassermann, *Diese Zeitschrift*. 1896. Bd. XXV.



Tabelle X.

Alle Thiere erhalten am 28. I. 1897 $4^1/_2$ Uhr Nachm. je $^1/_3$ ccm Originaltoxins mit Bouillon auf je 1 ccm verdünnt.

Fortl. Nr.	Entmilzte Thiere				Normale Thiere	
	Zeit nach der Entmilzg. in Tagen	Gewicht bei Entmilzg. in grm	Gewicht bei Spritzung in grm	Todeszeit	Gewicht bei Spritzung in grm	Todeszeit
1	16	179	159	bleibt leben	176	bleibt leben
2	7	200	190	„	176	„
3	22	180	204	„	193	„
4	20	179	226	„	199	„
5	19	247	246	† nach 26 St.	226	„
6	20	228	249	bleibt leben	287	„

Die Dosis des Toxins war also zu gering, um normale Meerschweinchen zu tödten. Ist daher der Versuch auch nicht geeignet, zu prüfen, ob irgend ein günstiger Effect durch die Entmilzung hervorgerufen wird, so beweist er doch, dass das Gift keineswegs die entmilzten Thiere erheblich mehr schädigte, als die Controlthiere.

Um aber auch zu sehen, ob zwischen normalen und entmilzten Thieren bei einer erheblich stärkeren Giftdosis ein wesentlicher Unterschied sich herausstellt, stellten wir folgenden Versuch an:

Tabelle XI.

Alle Thiere erhalten am 15. II. 1897 $5^1/_4$ Uhr Nachm. je 1 ccm des Originaltoxins.

Fortl. Nr.	Entmilzte Thiere				Normale Thiere	
	Zeit nach der Entmilzg. in Tagen	Gewicht bei Entmilzg. in grm	Gewicht bei Spritzung in grm	Todeszeit	Gewicht bei Spritzung in grm	Todeszeit
1	7	225	200	† n. 49 Std.	151	† n. $40^1/_2$ St.
2	7	230	205	† „ $24^1/_2$ „	156	† „ 3—12 „
3	7	226	219	† „ 3-12 „	252	† „ 2—11 „
4	7	230	220	† „ 3-12 „	270	bleibt leben

Ein Blick auf die Tabelle lehrt, dass ein wesentlicher Unterschied zwischen beiden Gruppen nicht vorhanden ist. Will man aus dieser wie aus der vorigen etwas herauslesen, so würde sich höchstens ergeben, dass die normalen Thiere sich um ein Geringes besser als die operirten verhielten.



Während wir über Infectionen nach Milzexstirpationen aus der Litteratur einiges Material zusammenstellen konnten, findet sich vor unserer Publication keine Angabe über den Ablauf bakterieller Intoxicationen[1] nach der Splenectomie. Dadurch, dass wir Beides verglichen, konnten wir feststellen, dass die Entmilzung etwas ganz anderes für die Infection wie für die Intoxication bedeutet. Denn sie kann Infectionskrankheiten unter Umständen sehr günstig beeinflussen, ist aber gegenüber Intoxicationen wirkungslos. Ein halbes Jahr nach unserer ersten Mittheilung erschien eine Arbeit von Courmont und Duffau,[2] die im Princip eine Nachprüfung unserer Versuche darstellt. Auch diese Versuche sind ebenso wenig discutabel wie die S. 430 u. 431 besprochenen Versuche derselben Autoren über Infectionen nach Splenectomie — wegen der so sehr kleinen Versuchsziffer.

Da, wie wir später zeigen werden, die Wirkung der Entmilzung vermuthlich durch die darnach eintretende Hyperleukocytose erklärt werden kann, so wollen wir hier eine Arbeit von Loewy und Richter[3] citiren, in der unter anderem der Einfluss künstlicher Hyperleukocytose (Sperminiinjectionen) auf die Vergiftung mit Diphtherietoxin studirt wurde.

Die Angaben sind leider sehr knapp gehalten und man ersieht nicht recht, um wie viele Heilungen „bei der einfachen tödtlichen Dosis“ es sich gehandelt hat und wie viel Misserfolge den Heilungen gegenüber stehen. Dass gelegentlich einmal ein mit Spermin behandeltes Thier dem Toxintod entgehen kann, ist ebenso wohl möglich, wie dass es die Vergiftung schlechter verträgt als ein Controlthier. Auch bei unseren Versuchen haben sich ja eben solche kleine Differenzen gezeigt. Doch beweisen sie nichts gegen das von uns gefundene deutliche Resultat, dass die Entmilzung gegen Infection schützen kann, gegen Intoxicationen nicht (ebenso wie Loewy und Richter mit Spermin Infectionen gegenüber deutliche Schutzkraft erzielten, gegen Intoxicationen aber nicht).

Diese Resultate sind auch ein Beweis für die Anschauung, dass andere Functionen des Organismus als Schutzkräfte gegenüber Infectionen thätig sind wie gegen Vergiftungen mit den Stoffwechselproducten der Bakterien.

[1] Einige Arbeiten beschäftigen sich mit der Frage der Immunisirbarkeit von Thieren nach Entmilzung. Auf diese Publicationen können wir hier natürlich nicht eingehen.

[2] Courmont und Duffau, *Compt. rend. de la soc. de biol.* 1897.

[3] Virchow's *Archiv.* 1898. Bd. CLI.



IV. Hat die Unterbindung der Milz (Entfernung aus der Blutbahn) die gleichen Folgen wie die Exstirpation der Milz?

Nachdem wir eine Reihe von Befunden als Folge der Milzexstirpation constatirt hatten, legten wir uns die Frage vor, ob das Eintreten dieser Zustände an die Entfernung des Organs aus dem Körper überhaupt geknüpft ist, oder ob es genügt, die Milz aus der Blutbahn auszuschalten.

Eine derartige Fragestellung war durch die Erfahrungen geboten, welche man in neuerer Zeit bei dem Studium anderer Organe — insbesondere der Schilddrüse — gemacht hatte. Es war zu entscheiden, ob die Folgen der Splenectomie lediglich durch Veränderungen des Blutes sich erklären lassen, oder ob man zu der Annahme einer besonderen inneren Secretion genöthigt ist. Nach der Unterbindung waren zwei Möglichkeiten gegeben. Die unterbundenen Thiere konnten sich ebenso wie die entmilzten oder anders wie dieselben verhalten. Der erste Ausfall würde bedeuten, dass die Ausschaltung der Milz aus der Blutbahn genügt, um unsere obigen Resultate zu erzielen. Damit wäre natürlich nicht gesagt, dass nicht trotzdem noch eine innere Secretion der Milz bestehen könnte, nur braucht sie zur Erklärung unserer Ergebnisse nicht herangezogen zu werden. Sollten die unterbundenen Thiere sich aber anders wie die entmilzten verhalten, so lag in der That der Gedanke nahe, dass noch andere Beziehungen der Milz zum Organismus, wie diejenigen, welche durch die Blutbahn hergestellt werden, in Frage kommen müssen. Man müsste dann daran denken, dass die Milz entweder chemisch wirksame Körper, die auch durch die Lymphbahn in den Organismus übergehen können, producirt oder sie aufnimmt, um sie unwirksam zu machen. Das sind ja die Vorstellungen, welche die moderne Physiologie mit dem Begriff der inneren Secretion verbindet.

Die Unterbindung der Milz wurde ganz so ausgeführt, wie wir es oben bei der Exstirpation beschrieben haben. Der einzige Unterschied bestand darin, dass wir die Milz nach Knüpfung der um die Milzgefässe gelegten Ligaturen für gewöhnlich nicht abschnitten, sondern am Stiel beliessen. Nur in einzelnen Fällen lösten wir die Milz ab und versenkten sie frei in die Bauchhöhle.

Wir bemerkten oben, dass die Exstirpation der Milz von den Thieren im Allgemeinen sehr gut vertragen wurde. Ganz im Gegensatz dazu starben uns weitaus die meisten Thiere, denen wir die Milz nur unterbunden hatten, innerhalb ganz kurzer Zeit nach der Operation.

Von 23 Meerschweinchen erholten sich nur 5 dauernd.

Die Sectionsbefunde gaben zwar meistens Aufklärung über die directe Todesursache, indem wir häufig Pneumonieen und in einzelnen Fällen



hämorrhagische Infarcte in der Lunge fanden; indess die Beziehungen dieser Befunde zu dem vorgenommenen Eingriff sind keine ganz klaren. Der einzige Unterschied zwischen Unterbindung und Exstirpation der Milz besteht darin, dass bei der ersten Operation ein aseptisch nekrotisirender Fremdkörper in der Bauchhöhle verblieb. Es wäre möglich, dass dieser Körper mechanisch etwa durch Nervenreizung oder durch chemische Umsetzungen, bei denen Giftstoffe producirt werden, zur Schädigung des Herzens und auf diesem Wege zu einer solchen der Lunge führt. (So würden sich unsere vielen Pneumonieen erklären lassen.) Doch ist diese Erklärung nur eine Hypothese, mit der wir uns Mangels einer auf Thatsachen basirenden Deutung begnügen müssen.

Da sich also in Folge dieser ungünstigen Verhältnisse nur wenige Thiere dauernd erholten, konnten wir nur eine beschränkte Zahl von Impfversuchen ausführen. Die Resultate sind in der Tabelle zusammengestellt. Der Uebersicht halber fügen wir gleichzeitig die Controlversuche mit entmilzten Thieren bei.

Tabelle XII.

Alle Thiere erhalten am 1. II. 1897, $5^1/_4$ Uhr Nachm. je 1 Oese Pyocyaneus 18 stündige Agarcultur in je 1 ccm Bouillon.

	Fortl. Nr.	Gew. bei Operation in grm	Gew. bei Spritzung in grm	Zeit seit Operation	Todeszeit	Bemerkungen Gewichte:	
Entmiltzte Thiere	1	247	245	9 Tage	bleibt leben	1. II.	245
						5. II.	267
						8. II.	274
						10. II.	292
						25. II.	323
	2	283	271	6 „	bleibt leben	1. II.	271
						5. II.	288
						8. II.	312
						10. II.	320
						25. II.	356
Unterbund. Thiere	3	263	212	9 „	bleibt leben	1. II.	212
						5. II.	229
						8. II.	240
						10. II.	250
						25. II.	277



Tabelle XII. (Fortsetzung.)

	Fortl. Nr.	Gew. bei Operation in grm	Gew. bei Spritzung in grm	Zeit seit Operation	Todeszeit	Bemerkungen	
Normale Thiere	4	—	206		sehr krank	1. II.	206
						3. II. } 4. II. }	sehr schwer krank, lässt sich auf die Seite legen.
						5. II.	165
						6. II.	172
						10. II.	189
						24. II.	217
	5	—	260		† n. 66 Std.		

Tabelle XIII.

Alle Thiere erhalten am 27. II. $^3/_4$6 Uhr Nachm. je 2 Oesen einer 20stündigen Pyocyaneus-Agarcultur gelöst in je 1 ccm Bouillon.

	Fortl. Nr.	Gew. bei Operation in grm	Spätere Gewichtsverhältn. in grm	Gew. bei Spritzung in grm	Tage seit Operation	Todeszeit	Bemerkungen Gewicht in grm
Entmilzte Thiere	1	243 2. II.	15. II. 276 20. II. 286 26. II. 301	316 27. II.	25	bleibt leben	1. III. 279 zieml. munter 2. III. 309 „ „ 4. III. 330 „ „
	2	516 11. II.	23. II. 605 24. II. 578 26. II. 624	634 27. II.	16	„	1. III. 550 „ „ 2. III. 592 „ „ 4. III. 604 „ „
	3	668 20. II.	23. II. 655 24. II. 658 26. II. 673	673 27. II.	8	„	1. III. 605 „ „ 2. III. 630 „ „ 4. III. 650 „ „
	4	656 19. II.	23. II. 577 24. II. 550 26. II. 566	572 27. II.	8	„	1. III. 570 „ „ 2. III. 588 „ „ 4. III. 610 „ „
Unterbund. Thiere	5	208 10. II.	14. II. 182 20. II. 206 26. II. 230	241 27. II.	17	zwischen 75 u. 84 St.	1. III. 199 zieml. matt 2. III. 192 noch matter
	6	417 18. II.	23. II. 355 26. II. 345	362 27. II.	9	bleibt leben	1. III. 368 zieml. munter 2. III. 368 „ „ 4. III. 364 „ „
	7	572 20. II.	22. II. 495 24. II. 499 26. II. 502	499 27. II.	7	„	1. III. 460 „ „ 2. III. 472 „ „ 4. III. 483 „ „
Normale Thiere	8	—	—	264 27. II.	—	zwischen 27 u. 36 St.	
	9	—	—	603 27. II.	—	zwischen 51 u. 60 St.	1. III. 546 sehr matt, lässt sich a. d. Seite legen
	10	—	—	470 27. II.	—	zwischen 75 u. 84 St	1. III. 406 } sehr matt 2. III. 376 } wie Nr. 9



Unsere Versuchszahlen konnten aus den oben angeführten Gründen hier nur kleine sein. Berücksichtigt man aber, unter welchen ungünstigen Verhältnissen die unterbundenen Thiere inficirt wurden, so ist der Unterschied zu Gunsten der unterbundenen gegenüber den normalen um so beweisender und die Resultate entsprechen denen bei den entmilzten Meerschweinchen.

Wir glauben also, dass folgender Schluss berechtigt ist: Die Unterbindung der Milz scheint auf nachfolgende künstliche Infection ebenso zu wirken wie die Entmilzung.

Für die Erklärung der Wirkung der Milzexstirpation brauchen wir also andere Gründe wie die Entfernung des Organs aus der Blutbahn nicht heranzuziehen.

V. Die Baktericidität des Blutes nach der Entmilzung.

Nachdem wir als Folge der Milzexstirpation eine so erhebliche Schutzwirkung gegenüber Infectionen constatirt hatten, war nunmehr zu untersuchen, auf welchen Veränderungen im Organismus dieselbe beruhte. Diese Veränderungen können a priori in den Organen oder im Blute localisirt sein. Wir wandten uns bei unseren Untersuchungen ausschliesslich dem Blute zu. Diese Beschränkung findet in verschiedenen Momenten ihre Berechtigung. Zwischen Milz und Blut bestehen ja wichtige Beziehungen — wenn dieselben auch im Einzelnen noch strittig sind — ebenso zweifellos ist es, dass mit gewissen Schutzwirkungen bestimmte Veränderungen des Blutes regelmässig Hand in Hand gehen.

Zu untersuchen ist also, ob im Blute der entmilzten Thiere die erhöhte Schutzkraft ihren Ausdruck findet. Nach dem Ausfall der früheren Versuche musste hauptsächlich geprüft werden, welche Veränderungen das Blut im Vergleich mit normalen gegenüber bakteriellen Infectionen darbietet, doch hielten wir auch Parallelversuche mit Toxinen für interessant.

Die classische Methode zur Untersuchung der bakterienschädlichen Eigenschaften des Blutes ist ohne Zweifel die Buchner'sche, die ja bekanntlich auf folgendem Princip beruht: Man sät Bakterien in der zu untersuchenden, bakterienfeindlichen Flüssigkeit aus, entnimmt von dieser nach einer verschiedenen Zahl von Stunden Proben und vertheilt sie in Nährböden. Die Zahl der in einer bestimmten Frist gewachsenen Bakterien giebt dann einen Maassstab für die baktericide Wirkung der betreffenden Flüssigkeit. Durch diese Methode wird nur die eventuell numerische Schädigung der Bakterien bestimmt. Da es uns darauf ankam,



die Gesammtschädigung der Bakterien, die sich aus der Verminderung der Zahl und Abschwächung der Virulenz zusammensetzt, zu ermitteln, konnten wir anders vorgehen. — Wir benutzten das Thierexperiment, da ja hier der Gesammteffect der Schädigungen am einwandfreiesten demonstrirt wird.

Zur Prüfung der etwaigen Schädigung der Toxine war ein anderer Weg nicht gegeben.

Wir gingen demnach so vor:

Einem normalen und zwei entmilzten Thieren[1] wurde am 4. II. 1897 auf folgende Weise Blut entnommen.

Unter streng aseptischen Cautelen wurde bei dem betreffenden Thier die Haut in der Halsgegend zurückpräparirt und mit einem Messerschlage die grossen Gefässe geöffnet. Das herausfliessende Blut wurde sofort in sterilem Glase aufgefangen, unmittelbar mit sterilem Glasstab geschlagen und das Fibrin entfernt. Alsdann wurde die vorhandene Blutmenge in drei Theile getheilt, in 4, 4 und 2 ccm — alles unter Benutzung steriler Apparate. In die ersten 4 ccm werden 8 Oesen einer 19 stündigen Pyocyaneuscultur sorgfältig vertheilt, die zweiten 4 ccm werden mit 4 ccm des bereits erwähnten Pyocyaneustoxins versetzt und durchgeschüttelt. Die letzten 2 ccm werden zur Controleinspritzung mit unversetztem Blut reservirt. Alle 3 Gläschen kommen nun die gleiche Zeit in einen auf 38° eingestellten Brütofen, verbleiben in demselben $4^1/_4$ Stunden. Schliesslich wurde auch 1 ccm Bouillon mit 2 Oesen der Pyocyaneuscultur versetzt, ein weiterer Cubikcentimeter Bouillon mit 1 ccm Toxin vermischt und die gleiche Zeit im Brütschrank belassen. Die weiteren Einzelheiten finden sich in der Tabelle.

Tabelle XIV. **Spritzung mit Bakterienblut.**

Spritzung mit Blut vom normal. Thier (456 grm)	Spritzung mit Blut vom entmilzten Thier I	Spritzung mit Blut vom entmilzten Thier II
Am 4. II. erhalten 3 normale Meerschweinchen je 1 ccm des mit Pyocyaneusbakterien versetzt. Blutes. Blutuntersuchung: weisse Blutkörperchen 8000	Gew. vor Entmilzg. 516 grm „ am 4. II. . . . 423 „ Thier steht am 17. Tage n. der Entmilzung. Blutuntersuchung: weisse Blutkörp. vor Entm. 8 200 nach „ 16 800 3 normale Meerschweinchen erhalten am 7. II. $^1/_2$7 je 1 ccm des mit Pyocyan.-Bakt. vers. Entmilzungsblutes.	Gew. vor Entmilzg. 410 grm „ nach „ 388 „ Thier steht am 14. Tage n. der Entmilzung. Blutuntersuchung: weisse Blutkörp. vor Entm. 9 400 nach „ 16 000 3 normale Meerschweinchen erhalten am 4. II. $^1/_2$7 je 1 ccm des mit Pyocyan.-Bakt. vers. Entmilzungsblutes.

[1] Das normale Thier wog 456 grm. Das eine der entmilzten wog am Tage der Entmilzung 519, 17 Tage später am 4. II. 423 grm. Das andere bei der Milzexstirpation 410, 14 Tage später am 4. II. 388 grm.

Tabelle XIV. (Fortsetzung.)

F. Nr.	Gewicht in grm	Tod erfolgte n. Stunden	F. Nr.	Gewicht in grm	Tod erfolgte n. Stunden	F. Nr.	Gewicht in grm	Tod erfolgte n. Stunden
1	192	$20^1/_2$	1	181	45	1	193	$27^1/_4$
2	207	21	2	198	$19^1/_4$	2	209	29
3	214	20	3	211	23	3	215	$21^1/_4$
Im Durchschn. in $20^1/_2$ Std.			Im Durchschnitt in 29 Std.			Im Durchschnitt in 26 Std.		

Ein normales Meerschweinchen (Gewicht 260 grm) erhält am 4. II. $^3/_4$7 Uhr 1 ccm der mit Pyocyaneusbakterien versetzten Bouillon und stirbt zwischen 51 und 59 Std.

Spritzung mit Toxinblut.

Spritzung mit Blut desselben normalen Thieres der obig. Tabelle	Spritzung mit Blut desselben entmilzten Thieres I. Wie oben.	Spritzung mit Blut desselben entmilzten Thieres II. Wie oben
Am 4. II. 7 Uhr erhalten 3 norm. Meerschweinchen je 2 ccm des mit Pyocyan.-toxin versetzten normalen Blutes	Am 4. II. $^1/_2$8 Uhr erhalten 3 normale Meerschweinchen je 2 ccm des mit Pyocyaneus-toxin versetzt. Entmilzungs-blutes.	Am 4. II. $^3/_4$8 Uhr erhalten 3 normale Meerschweinchen je 2 ccm des mit Pyocyaneus-toxin versetzt. Entmilzungs-blutes.

F. Nr.	Gewicht in grm	Tod erfolgte n. Stunden	F. Nr.	Gewicht in grm	Tod erfolgte n. Stunden	F. Nr.	Gewicht in grm	Tod erfolgte n. Stunden
1	220	$49^3/_4$	1	218	zw. $1^1/_2$ u. 11 Stunden	1	220	38
2	223	bleibt leben	2	220	$44^1/_4$	2	224	$38^1/_2$
3	236	42	3	234	bleibt leben	3	241	47

Ein normales Meerschweinchen (225 grm) erhält am 4. II. 8 Uhr 2 ccm der mit Pyocyaneustoxin versetzten Bouillon und bleibt am Leben.

Spritzung mit reinem Blut.

Meerschweinchen (Gewicht 144 grm) wird am 4. II. 8 Uhr mit 1 ccm reinen Blutes vom normalen Thier gespritzt.	alle bleiben leben
Meerschweinchen (Gewicht 153 grm) wird am 4. II. 8 Uhr mit 1 ccm reinen Entmilzungsblutes von Thier I gespritzt.	
Meerschweinchen (Gewicht 165 grm) wird am 4. II. $8^1/_4$ Uhr mit 1 ccm reinen Entmilzungsblutes von Thier II. gespritzt.	



In einer zweiten Versuchsreihe wurde einem normalen und einem entmilzten Thier Blut[1] entnommen. Nach 2stündigem Aufenthalt im Brütschrank werden je 6 ccm der beiden Blutarten, ferner 6 ccm Bouillon mit je 12 Oesen einer 18stündigen Pyocyaneuscultur sorgsam vermischt und im Brütschrank 2 Stunden belassen.

Tabelle XV.

Spritzung mit Blut vom normalen Thier	Spritzung mit Blut vom entmilzten Thier
Am 13. II. 1897 $^1/_2$5 erhalten 4 normale Meerschweinchen je 1 ccm des mit Pyoc.-Bakterien versetzten Blutes des normalen Thieres.	Am 19. II. $^3/_4$5 erhalten 4 normale Meerschweinchen je 1 ccm des mit Pyocyaneusbakterien versetzten Blutes des entmilzten Thieres.

Fortl. Nr.	Gewicht in grm	Tod erfolgt nach Stunden	Fortl. Nr.	Gewicht in grm	Tod erfolgt nach Stunden
1	181	139	1	199	50
2	210	113	2	205	bleibt leben
3	215	$28^1/_2$—$38^1/_2$	3	230	„
4	263	50	4	254	„

Ueberblickt man die gefundenen Resultate, so ergiebt sich, dass in beiden Versuchsreihen die Bakterien durch das Entmilzungsblut mehr geschädigt wurden, als durch das Blut normaler Thiere.

Betrachten wir uns die erste Tabelle, so fällt das Resultat des Controlversuches auf, in welchem das Thier, dem Pyocyaneusbakterien nach Aufenthalt in Bouillon injicirt worden waren, erst nach einer Zeit von etwa 54 Stunden der Infection erlag, während alle mit Bakterien nach Blutpassage gespritzten Thiere bereits in etwa der Hälfte der Zeit zu Grunde gingen. Die bakterienschädigende Kraft des Blutes scheint also hier bereits gehemmt und das Blut in einen guten Nährboden verwandelt worden zu sein. (Diese Vermuthung ist wohl plausibel, doch lässt sich ein Zufall nicht ausschliessen, da nur ein Bouilloncontrolthier benutzt wurde.) Das entspricht ja den von Buchner auf Grund seiner Experimente entwickelten Anschauungen. Buchner hebt hervor, dass die Alexine des Blutes unter gewissen Umständen unwirksam werden. Dazu kommt es einmal, wenn sie mit einer zu grossen Bakterienmenge zu

[1] Norm. Meerschw. Gew. 19. II. 423 grm. Weisse Blutkörp. am 19. II. 9000
Entm. „ „ 11. II. 557 „ „ „ vor Entm. 6200
19. II. 616 „ nach 19. II. 25400



kämpfen haben. Ferner können die Alexine zwar baktericid wirken, aber doch noch Bakterien unvernichtet übrig bleiben und schliesslich, nachdem die Rolle der Alexine ausgespielt ist, bei genügender Zeit in den Nährstoffen des Blutes einen guten Entwickelungsboden finden. Es ist möglich, dass derartige Verhältnisse bei unseren Versuchen in Frage kommen, dass also die Zeit von $4^1/_4$ Stunden, in der die Bakterien der Einwirkung des Blutes ausgesetzt waren, eine zu lange gewesen ist.

Um so wichtiger ist es, dass doch ein Unterschied in der Einwirkung der beiden Blutarten besteht. Denn die Thiere, die mit Bakterien aus Entmilzungsblut gespritzt wurden, überlebten durchschnittlich die Infection länger als die Controlthiere.

Doch sind die Zeitunterschiede, wenn auch durch die Versuchsbedingungen erklärlich, zu gering, um überzeugend zu sein.

Im Hinblick auf die oben dargelegten Vermuthungen wiederholten wir den Versuch mit der Aenderung, dass wir die Bakterien nur 2 Stunden mit dem Blut in Berührung liessen, und nun ergab sich ein durchaus einwandfreies, und wie uns scheint, überzeugendes Resultat. Denn sämmtliche Controlthiere starben, während nur ein einziges der Thiere, die Bakterien aus Entmilzungsblut erhalten hatten, der Infection nicht Widerstand leistete. Dieser Gegensatz ist um so bemerkenswerther, als Buchner gefunden hat, dass im Allgemeinen der Bacillus pyocyaneus von der Baktericiditát des Blutes sehr wenig angegriffen wird.[1]

Unsere Resultate treten noch deutlicher hervor, wenn man ihnen gleichsam als Controlversuche die Experimente mit Toxin gegenüberstellt. Der Effect war ganz der gleiche, mochte man die Toxine mit normalem oder mit Entmilzungsblut zusammengebracht haben.

Wir sehen also, dass das Blut nach der Entmilzung eine specifisch bakterienschädigende Wirksamkeit gewinnt, Toxinen gegenüber indessen keinerlei Einfluss zeigt.

Diese Schädigung der Bakterien durch das Entmilzungsblut konnte entweder eine numerische sein, oder aber in einer Verminderung der Virulenz bestehen. Da wir keine Zählungen der Bakterien nach der Buchner'schen Methode vorgenommen haben — für die Erklärung der Schutzwirkung nach Entmilzung kam das ja nicht in Frage — so können wir natürlich nicht entscheiden, ob sich die Bakterien in dem einen Falle mehr vermindert haben als in dem anderen. Für eine numerische Schädigung der Bakterienzahl spricht der Umstand, dass wir bei unseren entmilzten Thieren — worauf wir noch eingehen — Hyperleukocytose

[1] Buchner nach Charrin et Roger, *Compt. rend. des séances de l'Academie des sciences de Paris.* 9. Nov. 1889.

gefunden haben, die nach den Versuchen von Hahn die Zahl der Bakterien erheblich vermindert. Gegen die Auffassung der Schädigung als einer numerischen sprechen die Angaben Montuori's.[1] Der Autor fand, dass nach Entmilzung das Blut ziffermässig weniger Bakterien zerstörte, als vor der Operation. Montuori experimentirte bei Hunden und Kaninchen mit Typhus- und Cholerabakterien, wir bei Meerschweinchen mit Bacillus pyocyaneus — und die Versuchsanordnung ist jedenfalls von Bedeutung für den Ausfall der Versuche.

Aber die Ergebnisse Montuori's stehen nicht im Einklang mit den modernen Arbeiten über Baktericidität. Denn wir werden später sehen, dass ebenso wenig an dem Auftreten von Hyperleukocytose nach Entmilzung zu zweifeln ist, wie an der Thatsache, dass Hyperleukocytose[2] eine numerische Schädigung der Bakterien bedingt.

Es war nicht überflüssig, auf alle die Punkte aufmerksam zu machen, in denen die Versuche Montuori's von unserer Versuchsanordnung abweichen, oder nicht mit allgemein gültigen Anschauungen harmoniren. Denn seine Ergebnisse würden, falls sie Bestätigung finden,[3] mit unseren Resultaten in einem directen Widerspruch stehen.

Immerhin braucht die numerische Schädigung, auch wenn sie mit in Betracht kommt, nicht allein vertreten zu sein, sondern auch die Virulenz kann herabgesetzt sein.

Unsere Versuche sind nach ihrer vorläufigen Mittheilung von Courmont und Duffau[4] bei Kaninchen mit Streptokokken und Staphylokokken nachgeprüft worden. Sie fanden, dass Entmilzungsblut weniger baktericid auf Staphylokokken, stärker auf Streptokokken wirkt, als normales. Doch die Autoren begnügen sich mit einer so geringen Thierzahl, dass ihre Versuche nichts beweisen können.[5]

---

[1] Montuori, Influenza dell' ablazione della milza sul portere microbicida del sangue. *Estratto dal Rend della R. Accademia della Scienze Fisiche e Mat.* 1892. — Citirt nach *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1893. Bd. XIII. S. 670. — Die Arbeit war uns leider im Original nicht zugänglich.

[2] Ueber die Leukocytose bezw. Lymphocytose nach Entmilzung siehe nächsten Abschnitt.

[3] Natürlich bei Pyocyaneusversuchen an Meerschweinchen.

[4] Courmont und Duffau, Propriétés du sérum de lapin récement splenectomisés vis-à-vis des microbes pathogènes. *Compt. rend. de la soc. de Biol.* 18. Febr. 1898. p. 181.

[5] Nach Abschluss dieser Arbeit erschien eine grössere Abhandlung von Courmont und Duffau, *Arch. de méd. expér.*, Mai 1898. Da die Publication die Mittheilungen zusammenfasst, die die Autoren bereits früher mitgetheilt haben, so erübrigt es, besonders darauf einzugehen.



VI. Das Verhalten der weissen Blutkörperchen nach der Entmilzung.

Es war geboten, im Blute darnach Umschau zu halten, auf welchen Factoren die von uns beobachtete Wirkung des Entmilzungsblutes beruht.

Uebersieht man die Arbeiten, die bis zur Zeit unserer Versuche erschienen waren, so fällt als hervorstehendstes Merkmal des Blutes entmilzter Thiere eine Vermehrung der Leukocyten auf.

Wir wollen nicht ausführlich auf die Litteratur über diesen Punkt eingehen. Wer sich dafür interessirt, findet eine gute Uebersicht der ganzen Frage in einem kritischen Referat von Laudenbach.[1] Wir bemerken nur, dass viele Autoren sich nur mit dem Blutbefund nach Exstirpation pathologisch veränderter Organe beschäftigt haben und einwandsfreie Thierversuche nur in beschränktem Umfange vorliegen, und auch diese wurden, ausser den Kurloff'schen, nicht an Meerschweinchen vorgenommen.[2] Da wir aber unsere Infectionsversuche an Meerschweinchen ausgeführt hatten, mussten wir uns vergewissern, wie bei dieser Thierclasse das Blut sich verhält; denn es ist ja durchaus unstatthaft, Erfahrungen bei einer Species auf eine andere zu übertragen. Zudem hatte Schulz[3] den Einwand erhoben, nicht die Entmilzung, sondern der dadurch gesetzte Wundreiz vermehre die Zahl der Leukocyten.

So waren eigene Untersuchungen nicht zu umgehen.

Zu diesen Versuchen wurden grosse Meerschweinchen benutzt, weil es nur dann möglich ist, bei demselben Thier häufig Blutentnahmen auszuführen. Stets wurde das Blut aus einer Ohrvene gewonnen. Wir zählten mit dem Zeiss'schen Apparat, immer wurden sämmtliche Quadrate der Zählkammer durchgezählt. Aufgesogen wurde das Blut mit zwei Mélangeeren und bei jeder Untersuchung 4 bis 8 Zählungen vorgenommen, um möglichst brauchbare Durchschnittswerthe zu erhalten. (s. Tab. XVI.)

Bei 14 Thieren kam also deutliche Hyperleukocytose zu Stande, bei 2 Thieren blieb sie aus. Diese Ausnahmefälle sind aber genügend erklärt. Thier Nr. 1 hatte eine schwere Eiterung, Nr. 7 starb 5 Tage nach der Operation, 1 Tag nach der Zählung an einer doppelseitigen Pneumonie. Allerdings liegt das Verhältniss nicht so einfach, dass Eiterung und Pneumonie die Zahl der weissen Blutkörperchen vermindert und so der Vermehrung entgegenwirkt, aber wir dürfen uns nicht wundern, wenn bei Complicationen durch pathologische Zustände die typische Hyperleukocytose ausbleibt.

[1] *Arch. de physiol.* 1896.

[2] Ueber Kurloff siehe später.

[3] *Archiv für klin. Medicin.* 1894.



Tabelle XVI.

Fortl. Nr.	Vor Entmilzung		Gewicht in grm	Nach Entmilzung	
	Zeit der Zählung	Resultat		Zeit der Zählung	Resultat
1	18. I. 5 Uhr Nm.	19200	687	22. I. 5 Uhr Nm.	18 000[1]
				23. I. „	16 400
				24. I. „	14 400
2	18. I. 6 Uhr Nm.	8200	516	22. I. 5 Uhr Nm.	8 000
				23. I. „	10 800
				24. I. „	7 200
				26. I. „	10 900
				29. I. „	16 400
				30. I. „	16 400
				4. II. „	16 800
3	20. I. 5 Uhr Nm.	12800	410	22. I. 6 Uhr Nm.	15 200
	21. I. 11 „ Vm.	9400		23. I.	17 400
				24. I. 11 Uhr Vm.	11 400
				26. I. „	21 800
				4. II. „	16 000
4	23. I. 12 Uhr Vm.	3400	247	25. I. 11 Uhr Vm.	9 200
				30. I. „	10 800
				1. II. 4 „ Nm.	11 400
5	8. II. Vm.	4800	225	11. II. Vm.	7 400
6	23. I. 12 Uhr Vm.	4200	205	25. I. 3 „ Nm.	7 800
7	26. I. 1¼ Uhr Nm.	5600	201	30. I. 1 „ Nm	3 600
8	2. II. 11 Uhr Vm.	6000	189	6. II. 11 „ Vm.	8 600
				10. II. „	10 200
9	26. I. Nm.	9800	283	29. I. „	7 800
				30. I. „	10 600
				1. II. „	12 500
10	2. II. 11 Uhr Vm.	6200	243	4. II. „	11 800
				10. II. „	13 400
				15. II. „	12 400
				27. II. „	8 800
11	1. III. Vm.	5600	751	4. III. „	19 500
				6. III. „	19 200
12	11. II. Vm.	6200	557	12. II. „	11 000
				16. II. „	16 800
				19. II. „	25 400
13	11. II. Vm.	6600	516	12. II. „	10 200
				16. II. „	13 600
				19. II. „	18 100
				25. II. „	23 200
				27. II. „	15 000[2]
14	17. II. Vm.	15800	656	20. II. „	27 000
				25. II. „	17 400
				27. II. „	22 600

[1] 654 grm Gewicht. Wunde aufgeplatzt und ganz vereitert.

[2] Leicht eiternde Wunde.



Tabelle XVI. (Fortsetzung.)

Fortl. Nr.	Vor Entmilzung		Gewicht in grm	Nach Entmilzung	
	Zeit der Zählung	Resultat		Zeit der Zählung	Resultat
15	18. II. Vm.	14 000	668	20. II. Vm. 25. II. Nm. 27. II. Vm.	32 000 24 600 25 000
16	20. II. Vm.	17 200	546	22. II. Vm. 25. II. Nm.	15 400 29 400

Um den Einwand von Schulz zu berücksichtigen, dass nicht die Entmilzung, sondern der Wundreiz die Zahl der Leukocyten in die Höhe treibt, haben wir bei 4 Meerschweinchen die gleiche Operation wie sonst ausgeführt, aber die Milz nicht berührt.

Tabelle XVII.

Fortl. Nr.	Vor der Operation				Nach der Operation		
		Zahl der Leukocyten	Gewicht in grm		Zahl der Leukocyten	Gewicht in grm	Tag der Operation
1	1. III. Vm.	6 000	817	2. III.	5 800	782	1. III.
2	1. III. „	17 400	500	2. III. 5. III. 11. III.	16 000 16 000 17 000	476 460	1. III.
3	2. III.	14 200	502	5. III. 8. III. 11. III.	13 400 16 000 14 800	 490 478	4. III.
4	2. III.	15 000	459	6. III. 8. III. 11. III.	15 800 14 000 15 000	472 460 469	4. III.

Bei unseren Operationen wurde demnach durch den Wundreiz allein keine Hyperleukocytose erzielt. Wir sind daher berechtigt, die von uns bei den Splenectomieen gefundenen Werthe auf die Entfernung der Milz zu beziehen. Es ist ja natürlich durchaus möglich, dass der eine Hund, den Schulz laparotomirte — bei einer anderen Operationsmethode oder irgend welchen eventuellen Complicationen — hyperleukocytotisch werden konnte; für unsere Frage ist aber nur wichtig, dass bei unserer Operationsmethode die Hyperleukocytose ausblieb.

Auch bei den Meerschweinchen, denen wir die Milz nach der Unterbindung nicht exstirpirten, haben wir Blutzählungen vorgenommen. Da die Thiere im Allgemeinen die Operation sehr schlecht ertrugen, so ist es erklärlich, dass auch der Blutbefund kein einheitliches Bild zeigen konnte.

Tabelle XVIII.

Fortl. Nr.	Vor der Unterbindung			Nach der Unterbindung			Bemerkungen
		Zahl der weissen Blut-körperchen	Gewicht in grm		Zahl der weissen Blut-körperchen	Gewicht in grm	
1	23. I. Vm.	5 800	263	25. I. 30. I.	5 400 11 200		überlebt die Infection[1] mit Pyocyaneus.
2	26. I. Nm.	9 000	352	30. I.	102 000		† 2. II.
3	2. II. Vm.	5 600	254	4. II.	5 800		
4	10. II.	4 200		12. II. 15. II. 27. II.	6 000 5 800 5 900	182 181	
5	17. II.	7 400	545	19. II.	19 200	493	† 27. II.
6	17. II.	13 400	417	20. II. 25. II. 27. II.	36 400 6 800 6 800	398 352 362	überleben die Infection mit Pyocyaneus.
7	18. II.	16 800	572	22. II. 25. II. 27. II.	31 400 17 000 15 400	795 582 499	
8	17. II.	18 200	541	25. II.	7 700	452	† 26. II.
9	5. IV.	11 800	630	6. IV. 9. IV.	17 100 11 200		12. IV. todt gefunden.
10	9. IV.	12 200	672	11. IV.	8 200		† 12. IV.
11	11. IV.	11 300	580	13. IV. 18. IV.	12 700 12 200		

Nach der Unterbindung haben wir also der Erwartung entsprechend keineswegs regelmässig Hyperleukocytose beobachtet.

Der ungünstige Gesundheitszustand der Thiere nach dieser Operation musste die Zahl der Blutkörperchen so modificiren, dass Schlüsse aus den Resultaten überhaupt kaum gezogen werden konnten, auch durfte den zumeist sehr kranken und schnell sterbenden Thieren nur wenig Blutentnahmen zugemuthet werden.

In wie weit der Blutbefund sich zu den Resultaten der Infectionsversuche in Beziehung setzen lässt, wird später noch abgehandelt werden.

Wir können aber auf Grund unserer Versuche als feststehend ansehen, dass bei Meerschweinchen nach der Entmilzung eine Vermehrung der weissen Blutkörperchen eintritt, die nicht durch den Wundreiz verursacht wird.

[1] Die Infectionen wurden sämmtlich später vorgenommen als die Zählungen der Blutkörperchen.



Zu ganz denselben Ergebnissen wie wir, gelangt Kurloff. Ueber seine Resultate — die Arbeit ist in Ehrlich's Laboratorium ausgeführt — berichteten Ehrlich und Lazarus[1] in ihrer in jüngster Zeit erschienenen Monographie über die Anämie. Kurloff fand ebenfalls nach Entmilzung bei Meerschweinchen Vermehrung der Leukocyten.

Es steht nunmehr auf der einen Seite fest, dass nach der Entmilzung Erhöhung der Widerstandskraft der Thiere gegenüber Infectionen und Steigerung der Baktericidität des Blutes beobachtet wird, auf der anderen Seite eine deutliche Zunahme der Zahl der Leukocyten. Wenn man auch die Möglichkeit nicht ganz vernachlässigen darf, dass noch andere Momente im Spiel sein können, so ist es doch sehr wahrscheinlich, dass Leukocytose und Baktericiditätszunahme nach der Entmilzung in engem causalen Zusammenhang stehen. Denn die grosse Bedeutung der Leukocyten für die bakterienschädigenden Eigenschaften des Blutes ist durch die zahlreichen Arbeiten verschiedener Autoren in den letzten Jahren sehr wahrscheinlich gemacht worden.

Unsere Versuche geben eine nicht unwichtige Bestätigung dieser Resultate. Sie zeigen, dass in der That eine Hyperleukocytose einen sehr wesentlichen Factor für das Eintreten der Baktericidität abgeben kann. Das Bemerkenswerthe ist, dass die Leukocytose hier auf ganz andere Art erzeugt worden ist, als die bisher bei Infectionen verwandte. Dass für unsere Ergebnisse die Leukocytenvermehrung keineswegs etwas Gleichgültiges war, dafür spricht ein aus folgenden Erwägungen hervorgegangener Versuch.[2]

Beruhte die Schutzwirkung gegen die Infection bei unseren Thieren auf der nach der Entmilzung auftretenden Hyperleukocytose, so musste, falls wir die Infection der Entmilzung voran schickten, das Resultat sich ändern, ja sogar umkehren. Denn einmal wurden die bereits inficirten Thiere durch eine schwere Operation geschädigt, auf der anderen Seite konnte die Leukocytose nicht so rechtzeitig auftreten, um noch Heilwirkung zu entfalten.

Das lehrt zur Evidenz ein entsprechender Versuch. Wir inficirten 14 Thiere mit Pyocyaneus. Einige Stunden nach der Infection entmilzten wir 8 von ihnen; das Resultat war folgendes: von den 8 entmilzten Thieren starben 6, von den 6 nicht entmilzten nur 2. Das Resultat hat sich also, wie erwartet, umgekehrt.

Durch unsere Kenntnisse über die Wirkungen der Hyperleukocytose wird aber auch Aufklärung dafür gegeben, dass sich der entmilzte

[1] In russischer Sprache sind nach Ehrlich Kurloff's Ergebnisse schon früher publicirt.

[2] Die folgenden Zeilen sind aus der vorläufigen Mittheilung übernommen.



Organismus der Infection gegenüber ganz anders verhält als der Intoxication. Einleuchtend ist nunmehr auch, dass bei einer Krankheit, bei der, wie bei der Diphtherie, das toxische Moment so sehr im Vordergrund steht, eine Schädigung der Bakterien nicht so viel ausmachen konnte.[1]

Auf der anderen Seite wird es begreiflich, dass die Infection mit Cholerabakterien so gut überwunden wurde. Pfeiffer[2] hat in verschiedenen Arbeiten darauf aufmerksam gemacht, dass hyperleukocytotische Veränderungen für den Organismus ein wichtiges Hülfsmittel gegen die Cholerainfection werden können. Die interessanten Angaben Sobernheim's,[2] dass man Thiere durch vorhergehende Injection indifferenter Bakterienculturen gegen die nachfolgende, an sich tödtliche Cholerainfection schützen könne, hat Pfeiffer ebenfalls auf Vermehrung der Leukocytenzahl zurückgeführt.

Auch die Schutzwirkung der Leukocyten aber hat naturgemäss ihre Grenzen. Aehnlich wie Buchner bestimmte Schranken für die Wirksamkeit der Alexine im Blut aufgefunden hat, wie Pfeiffer die Wirksamkeit der Leukocyten gegen Cholera nur als bis zu einem bestimmten Grade vorhanden betonte, so können wir darauf hinweisen, dass die Leukocytenwirkung nach Entmilzung ihre Grenzen hat.

Es kann uns daher nicht Wunder nehmen, dass wir beim Milzbrand nur so geringe Unterschiede erhalten haben. Das kann ja auf den verschiedensten Momenten beruhen; vielleicht, dass die Leukocyten speciell gegen Milzbrand nur eine geringe Wirksamkeit entfalten können, vielleicht auch entwickeln sich die Milzbrandbacillen zu schnell im Blut, als dass die Leukocyten überhaupt in Action treten könnten.

Wie die Einwirkung der vorhandenen Leukocytose auf den Verlauf von Infectionskrankheiten ihre Grenzen hat, so erheben sich die weiteren Fragen: entsteht immer oder nur unter bestimmten Bedingungen nach der Entmilzung Hyperleukocytose, wann entsteht sie und wann verschwindet sie?

Dass sie bei unseren Versuchen, soweit nicht pathologische Momente vorwalteten, immer entstanden ist, berichteten wir schon. Aufzutreten scheint sie meist recht bald, indessen gelegentlich erst nach 3 bis 4 Tagen. Wann sie verschwindet, können wir nicht mit Bestimmtheit sagen — jedenfalls war sie nach 2 und $2^{1}/_{2}$ Monaten noch vorhanden.

[1] Löwy und Richter hatten mit dem Diphtherietoxin auch nur wenig ermuthigende Resultate. — Siehe Virchow's *Archiv*. 1898.

[2] Vgl. *Diese Zeitschrift*.

Nachdem wir die Bedeutung der Hyperleukocytose nach der Entmilzung discutirt haben, müssen wir doch hervorheben, dass vorläufig noch nicht der Beweis erbracht ist, dass die Veränderungen des Organismus nach der Entmilzung hiermit völlig erschöpft sind. Es bleibt noch weiteren Untersuchungen vorbehalten, festzustellen, ob nicht noch andere Veränderungen chemischer oder morphologischer Natur mit betheiligt sind.

Auch die Unterbindungsversuche ergaben Einiges, das für die Leukocytenfrage von Interesse ist. Bei einigen Thieren, bei denen die Milz unterbunden wurde, war eine sehr starke Hyperleukocytose bereits abgeklungen und die Thiere kamen bei der Infection durch. Man kann annehmen, dass in diesen Fällen noch sehr viele Zerfallsproducte von Leukocyten im Blute kreisten und eine baktericide Thätigkeit entfalteten. Diese Beobachtung harmonirt sehr mit neueren Angaben der Autoren, nach denen die Leukocyten nicht als solche den Kampf gegen die Bakterien ausfechten, sondern durch ihre Secrete oder Zerfallsproducte wirksam sind.

Wir haben bei unseren Versuchen lediglich die Gesammtzunahme der Leukocytenzahl berücksichtigt, ohne darauf zu achten, in wie weit an der Vermehrung die einzelnen Leukocytenformen betheiligt sind. In dieser Hinsicht giebt Ehrlich — wiederum auf Grund der Kurloff'schen Versuche — höchst interessante Aufschlüsse. Ehrlich-Kurloff zeigen nämlich, dass die Vermehrung der weissen Blutkörperchen, die sich nach Entmilzung findet, ausschliesslich in einer Lymphocytose besteht, d. h. in einer Zunahme der Lymphocyten.[1]

Ehrlich lässt durchklingen, dass eine Lymphocytose vermuthlich nichts mit Baktericidität zu thun hat: wir haben zum ersten Male an Thieren mit Lymphocytose planmässige Infectionsversuche ausgeführt und fanden das Blut baktericid und die Thiere resistent. Wenn also nicht die entmilzten Thiere in ihrem Blute eine noch unbekannte, von den Leukocyten unabhängige Schutzkraft beherbergen, so besteht die Schutzkraft bei den entmilzten Thieren auf den Lymphocyten.

Entschieden könnte die Frage werden, falls es möglich wäre, eine Lymphocytose ohne jede Complication zu erzeugen und man dann die Widerstandsfähigkeit der betreffenden Thiere prüfen würde.

---

[1] Lymphocyten sind nach der Definition von Ehrlich kleine, in der Regel den rothen Blutkörperchen an Grösse nachstehende Zellen, deren Leib von einem grossen, runden, homogen gefärbten, concentrisch gelagerten Kern eingenommen ist, während das Protoplasma als ein schmaler Saum den Kern concentrisch umschliesst.



Eine Lymphocytose kann man nach den Angaben in der Litteratur durch Pilocarpininjectionen hervorrufen. Aber leider lassen sich hiermit einwandsfreie Infectionsversuche nicht ausführen. Denn Loewy und Richter[1] fanden, dass die Versuchsthiere Pilocarpininjectionen sehr schlecht vertragen und an Herztod zu Grunde gehen.

Sollte aber die Lymphocytose in der That nichts mit Baktericidität zu thun haben, so würde die Thatsache, dass entmilzte Thiere gegenüber bestimmten Infectionen resistenter sind, natürlich dadurch nicht berührt werden, sondern würde nur eine andere Deutung verlangen.

Dann könnte z. B. die Widerstandskraft der entmilzten Thiere etwa so erklärt werden. Die Milz ist — auch nach Ehrlich — ein „spodogenes Organ", das heisst, in ihr werden Gewebstrümmer, insbesondere auch die in der Blutbahn zu Grunde gegangenen Leukocyten zurückgehalten. Diese Leukocytentrümmer, die ja allgemein mit den Alexinen in nächste Beziehung gesetzt werden, würden sich also dann nach der Entfernung der Milz im Blut anhäufen.

VII. Die Function der Milz bei Infectionskrankheiten.

Es bleibt nunmehr übrig, die wichtige Frage zu erörtern, ob die von uns experimentell gefundenen Resultate mit den klinischen Thatsachen im Einklang stehen, und ob sie im Stande sind, das Verständniss der klinischen Erscheinungen zu vertiefen.

Wir wollen von einigen klinisch durchaus feststehenden Thatsachen ausgehen und Werth darauf legen, auf diesem schwierigen Gebiete uns möglichst auf keine Speculationen einzulassen.

In einer Reihe von Infectionskrankheiten schwillt die Milz an, am erheblichsten bei Typhus, Malaria.

Eine solche Anschwellung der Milz braucht natürlich an sich keine reactive in dem Sinne zu sein, dass der Organismus sich auf diese Weise Hülfsmittel gegen die Infection verschafft, sondern könnte etwa wie die acute Nephritis lediglich mit der Schädigung des Organs durch die Infectionskrankheit zusammenhängen.

Nun hat Ehrlich-Kurloff gezeigt, dass die Lymphocyten die specifischen Milzzellen sind und nach Exstirpation der Milz reichlich vermehrt im Blut vorhanden sind.

[1] Virchow's *Archiv.* 1898.



Unsere Versuche beweisen demnach, dass die der Milz eigenthümlichen Zellen ebenso künstliche Infectionen im günstigen Sinne beeinflussen, wie es von den polynucleären Leukocyten bekannt ist.

Damit ist zum ersten Mal ein experimenteller Beweis dafür erbracht worden, dass die Milz mittels ihrer Zellen, ihrer charakteristischen Lymphocyten, Alexinwirkungen im Buchner'schen Sinne — um die Sache in einem Worte zusammenzufassen — entfalten kann und es ist wahrscheinlich geworden, dass der Milztumor bei Infectionskrankheiten, d. h. die Vermehrung der Milzzellen eine ähnliche Rolle spielt wie die Vermehrung der polynucleären Leukocyten bei den ohne Milzschwellung verlaufenden Infectionskrankheiten.

Eine weitere Stütze für diese Erklärung wird durch Heranziehung noch anderer klinischer Thatsachen gewonnen. Wir sehen, dass im Allgemeinen überall dort, wo eine erhebliche Milzschwellung sich entwickelt, keine polynucleäre Hyperleukocytose sich ausbildet, also z. B. bei Typhus, Malaria, acuter uncomplicirter Tuberculose.

Es ist bekannt, dass beim Typhus die Milzschwellung allmählich zu-, die Zahl der aus dem Knochenmark stammenden polynucleären Leukocyten allmählich abnimmt. Bei der Pneumonie ist in ganz typischer Weise bis zur Krise eine ausgesprochene polynucleäre Leukocytose vorhanden, die Milz bleibt in mässigen Grenzen. Mit der Krise schwillt, wie C. Gerhardt gefunden hat, die Milz an, die Knochenmarkszellen Ehrlich's, die polynucleären Leukocyten, nehmen ab.

Ein derartiges Verhalten lässt sich auch noch bei anderen Infectionen, wenn auch nicht immer so übersichtlich und leicht erkennbar beobachten; diese eben wiedergegebenen, unzweifelhaft feststehenden Befunde, die man jederzeit am Krankenbett controliren kann, dürften aber zur Illustrirung genügen.[1]

Wir finden also ein gesetzmässiges Alterniren von Milzschwellung und polynucleärer Leukocytose und erblicken darin einen Hinweis, dass beides physiologisch analoge Functionen sind, das eine Mal tritt der Lymphocytenapparat vorwiegend (also insbesondere die Milz) in Action, das andere Mal der Leukocytenapparat als Ausdruck der vom Knochenmark ausgehenden Reaction. Es harmonirt mit allgemein acceptirten modernen Anschauungen, anzunehmen, dass die verschiedenen

[1] Für die Zusammensetzung des Blutes bei den acuten Infectionskrankheiten des Menschen vgl. man vorzugsweise Türk, *Klin. Untersuchungen über das Verhalten des Blutes bei acuten Infectionskrankheiten.* Wien und Leipzig 1898.

Krankheitserreger durch Chemotaxis bald den einen, bald den anderen Apparat mehr beeinflussen. Wir glauben so durch unsere Experimente wie durch unsere Ausführungen gezeigt zu haben, dass der Milz als Lymphocytenorgan eine wichtige Function bei Infectionskrankheiten zukommt, eine Thatsache, die anscheinend durch die Untersuchungen der letzten Jahre in den Hintergrund gerückt war, die aber für den Kliniker förmlich als Postulat anzusehen war.

[Aus dem anorganisch-chemischen Laboratorium der technischen Hochschule und dem chemischen Untersuchungsamte zu Dresden.]

Die Methodik der bakteriologischen Wasseruntersuchung.

Von

Med.-Rath Dr. **W. Hesse** und Med.-Rath Dr. **Niedner**
in Dresden.

Erfahrungsgemäss giebt die bakteriologische Wasseruntersuchung über Zustände und Veränderungen im Wasser Aufschlüsse, die mit keinem anderen Mittel zu erzielen sind.

Mit Hülfe der gebräuchlichen Nährböden ist es zwar möglich, verschiedene Wässer unter einander zu vergleichen und von den in ein und demselben Wasser zeitlich auftretenden Veränderungen eine Vorstellung zu erhalten, wenn nur bei einer derartigen Untersuchung ausschliesslich ein und derselbe Nährboden verwendet wurde.

Es besitzen aber die bisher veröffentlichten Untersuchungen, namentlich wenn die genaue Beschreibung der Versuchsmethode und insbesondere der Herstellung des Nährbodens unterblieb, nur einen beschränkten Werth, und, was das Schlimmste ist, die von verschiedenen Beobachtern gewonnenen Ergebnisse sind unter einander nicht vergleichbar, weil einerseits der übliche Nährboden (Nährgelatine) sich überhaupt zu Wasseruntersuchungen schlecht eignet, und andererseits die Beschaffenheit der Nährböden, die auf die Entwickelung der Colonieen von grösstem Einfluss ist, ausserordentlich schwankt.

So haben uns mit sonst gleich zusammengesetzten Nährböden angestellte Untersuchungen zur selben Zeit vom selben Orte entnommener Elbwasserproben Unterschiede geliefert, die sich nur aus der Verschiedenheit der Reaction zu verschiedenen Zeiten hergestellter Nährböden erklären lassen.

Es lieferte z. B. ein neutral reagirender Pepton-Agar-Agar mit 1 ^{ccm} Elbwasser bei 20° C. nach 5 Tagen 46000 Colonieen, derselbe Nährboden, schwach alkalisch gemacht, nur 13000 Colonieen.

Diese Thatsachen und das Bedürfniss, zu einem guten, allgemein anwendbaren, einheitlichen Verfahren der bakteriologischen Wasseruntersuchung zu gelangen, haben uns veranlasst, uns eingehend mit der Methodik dieser Untersuchung zu beschäftigen.

Hierbei sind wir zu folgenden, zum Theil bereits bekannten, Ergebnissen gelangt:

1. Menge des Untersuchungsmateriales.

Während sich in 1 ^{ccm} reinen Trinkwassers nur Zehner von Keimen befinden können, kann 1 ^{ccm} verunreinigten Flusswassers deren Millionen enthalten. In Platten, die mit 1 ^{ccm} solchen Flusswassers gegossen sind, können leicht viele Tausende von Colonieen zur Entwickelung kommen. So zahlreiche Colonieen in einer Platte lassen sich aber nicht nur schwer zählen, sondern sie hemmen sich auch sehr häufig gegenseitig in der Entwickelung. Daher liefert das Zählen der Colonieen in Platten, die davon Tausende enthalten, stets ein unsicheres Ergebniss hinsichtlich der Zahl der in dem untersuchten Wasser wirklich enthaltenen entwickelungsfähigen Keime; nimmt man aber die Zählung der Colonieen gar unter dem Mikroskop vor, und bestimmt die Zahl der in der ganzen Platte enthaltenen Colonieen durch Multiplication der in einzelnen Gesichtsfeldern gezählten, so erhält man wegen der höchst ungleichen Vertheilung der Colonieen in den Platten völlig unzuverlässige Zahlen.

Es ist deshalb dafür Sorge zu tragen, dass in einer Platte nicht mehr Colonieen auswachsen, als man ohne Mühe sicher zählen kann, also wenn möglich nicht über 100. Daher empfiehlt es sich, sehr keimreiches Wasser in dem Maasse zu verdünnen, dass die zur Herstellung einer Platte der Verdünnung entnommene Flüssigkeitsmenge nicht über 100 im Nährboden wachsende Keime enthält.

Hierzu hat sich folgendes Verfahren uns am besten bewährt:

Man sterilisirt nach Bedarf eine Anzahl Glasmensuren von 100 oder mehr Cubikcentimeter Inhalt. In diese Gefässe füllt man eine bestimmte Menge sterilisirtes Wasser, z. B. 90 ^{ccm}, und fügt dann mittels sterilisirter Pipette 10 ^{ccm} des zu untersuchenden Wassers hinzu. 1 ^{ccm} der Mischung beider Wässer enthält somit nur noch $^1/_{10}$ ^{ccm} des zu untersuchenden Wassers. Braucht man eine grössere Verdünnung, z. B. $^1/_{100}$ des Wassers, so erhält man sie durch Wiederholung des Verfahrens mittels einer zweiten Mensur und des bereits verdünnten Wassers. Selbstverständlich

kann man aber auch durch Anwendung anderer Wassermengen jeden beliebigen Verdünnungsgrad sicher herstellen. Jede so angefertigte Verdünnung muss natürlich vor weiterer Verdünnung gut gemischt werden.

Hat man den erforderlichen Verdünnungsgrad des zu untersuchenden Wassers hergestellt, so bringt man einen abgemessenen Theil desselben, z. B. $^1/_2$ ccm, mittels sterilisirter Pipette oder sterilisierten Tropfgläschens in den vorbereiteten Nährboden und giesst die Platte wie gewöhnlich aus. Von Tropfgläsern haben sich uns die W. Limberg & Co. in Gifhorn, Provinz Hannover, patentirten sehr bewährt. Hat man mit Schmutzwässern zu thun, so empfiehlt es sich, das zur Verdünnung dienende sterilisirte Wasser auf 30° vorzuwärmen, weil in derart erwärmtem Wasser die Mischung der Keime weit gleichmässiger als in kaltem Wasser erfolgt.

In vielen Fällen kann die Verdünnung des zu untersuchenden Wassers dadurch umgangen werden, dass man nur Bruchtheile eines Cubikcentimeters, einen oder mehrere Tropfen von bekanntem Volumen, dem Nährboden zusetzt. Der geeignetste Verdünnungsgrad ist unter Umständen durch einen Vorversuch zu ermitteln. Das zu untersuchende Wasser ist unmittelbar vor Entnahme jeder Probe, die dem Nährboden zugesetzt werden soll, zu schwenken oder zu kippen (nicht heftig zu schütteln),[1] um eine möglichst gleichmässige Vertheilung der Keime in der Flüssigkeit zu bewirken, weil nicht selten ein Theil der Keime das Bestreben hat, sich an den Boden des Gefässes oder an die Oberfläche der Flüssigkeit zu begeben.

2. Zahl der Proben.

Niemals liefern unmittelbar nach einander ein und demselben Wasser entnommene Proben dieselben Ergebnisse; es zeigen sich vielmehr auch bei sorgfältigster Arbeit ganz erhebliche, bis 50 und mehr Procent betragende Unterschiede in der Zahl der gewachsenen Colonieen.

Wir pflegen daher anstatt einer Probe hinter einander stets mindestens 5 Proben zu entnehmen und zu Platten auszugiessen und aus den Zahlen der in den Platten entstandenen Colonieen das arithmetische Mittel zu ziehen. Hat man keinen Vorversuch über die zu erwartende Anzahl Colonieen anstellen können, so empfiehlt es sich, bei wichtigen

[1] Durch starkes Schütteln wird ein Theil der Keime aus seinem Verbande mit anderen gelöst, ein anderer Theil derselben vernichtet, demnach die Zahl der Keime in uncontrolirbarer Weise einerseits vermehrt, andererseits verringert. Es ist dies einer der Umstände, die erfordern, dass die Herstellung von Wasserplatten stets in unmittelbarer Nähe des zu untersuchenden Wassers und sofort nach der Probeentnahme stattzufinden hat.

Untersuchungen 6 und mehr Platten unter Verwendung verschiedener Mengen des zu untersuchenden Wassers, am zweckmässigsten nach Herstellung einer einfachen und einer zehnfachen Verdünnung, zu giessen.

3. Gelatine oder Agar-Agar?

Ziel der Methode muss sein, aus der zur Platte bestimmten Wassermenge so viele Arten und Individuen von Keimen als nur möglich zur Entwickelung zu bringen.

Die Mittel, dies zu erreichen, sind: a) ausreichende Züchtungsdauer, b) geeignete Temperatur und c) geeignetster Nährboden.

Da ein zuverlässiges Ergebniss nur dann erhalten werden kann, wenn abgewartet wird, bis sämmtliche in eine Platte gelangten und in dem Nährboden gedeihenden Keime zu deutlich erkennbaren Colonieen ausgewachsen sind, so ist die Beobachtung der Platte bis zu diesem Zeitpunkt, erfahrungsgemäss 2 bis 3 Wochen lang, fortzusetzen.

Zahlreiche Versuche haben uns gelehrt, dass bei 20° C. in den ersten 3 Tagen etwa 30 Procent, in den ersten 5 Tagen etwa 70 Procent, in den ersten 10 Tagen etwa 90 Procent der in den Platten überhaupt (im Laufe von 3 Wochen) auswachsenden Colonieen zur Entwickelung kommen. Auch stimmen die Zahlen der in den einzelnen mit Wasser von ein und derselben Herkunft versetzten Platten enthaltenen Colonieen im Allgemeinen um so besser überein, je später die Colonieen gezählt werden.

Wärme beschleunigt zwar das Wachsthum einzelner Colonieen; doch empfiehlt es sich nicht, dieselbe erheblich zu steigern, weil dabei das Wachsthumsoptimum für manche Keime überschritten wird und meist ein zu schnelles Eintrocknen des Nährbodens in der gegossenen Platte stattfindet. Am besten hat sich uns das Züchten der Colonieen bei mittlerer Stubentemperatur, also bei ca. 20° C., bewährt.

Wenn man zur Untersuchung ein und desselben Wassers Nährgelatine und Nähr-Agar-Agar von gleicher Zusammensetzung und derselben neutralen Reaction verwendet, erhält man Anfangs durchschnittlich nahezu gleichviel gleichartige und — abgesehen von gelatineverflüssigenden — gleichgrosse Colonieen in den ausgegossenen Platten.

Sobald aber das Wasser gelatineverflüssigende Keime enthält, — und dies ist in keimreichem Wasser fast stets der Fall, — überwiegt vom 4. oder 5. Tage an die Zahl der Colonieen in den Agar-Agarplatten, weil die in der Gelatine eintretenden Verflüssigungen einen Theil der Colonieen einschmelzen, einen anderen Theil am Auskeimen hindern, schliesslich aber sich so ausbreiten, dass von einer Zählung der Colonieen und Fort-



setzung der Cultur nicht mehr die Rede sein kann. Die Gelatineplatten sind daher gewöhnlich nach dem 4. Tage nicht mehr brauchbar.

Zu dieser Zeit ist aber die Entwickelung von Colonieen in den Agar-Agarplatten noch keineswegs beendet; vielmehr kommen hier im Laufe der nächsten Tage bis zum Ende der 3. Woche noch etwa eben so viel Colonieen zum Vorschein, als bis dahin ausgewachsen waren.

Es kann deshalb keinem Zweifel unterliegen, dass bei Wasseruntersuchungen künftig Agar-Agar an die Stelle von Gelatine zu treten hat.

Die Verwendung von Gelatine kann nur noch den Zweck haben, Zahl und Art der schnell wachsenden, gelatineverflüssigenden Keime eines Wassers zu ermitteln.

Der Vorschlag, die Zählung der Colonieen in Gelatineplatten an einem der ersten Züchtungstage nach Ablauf einer bestimmten Zeit vor dem Eintritt von Verflüssigungen und vor dem Auswachsen sämmtlicher in dem Nährboden gedeihenden Keime zu Colonieen vorzunehmen, ist unannehmbar.

4. Technik der Herstellung von Agar-Agarplatten.

Zur Vornahme von Wasseruntersuchungen werden die mit sterilem Nähr-Agar-Agar versehenen Reagirgläser so lange kochendem Wasser ausgesetzt, bis ihr Inhalt völlig flüssig ist, dann im Wasserbade von 38 bis 40° C. gehalten. Sobald ihr Inhalt auf diese Temperatur abgekühlt ist (an einem mit Wasser beschickten gleich weiten und mit Thermometer versehenen Reagirglas lässt sich controliren, dass hierzu höchstens 5 Minuten gehören), kann der Zusatz der zu untersuchenden Wasserprobe stattfinden, und nach deren guter Vertheilung im Agar-Agar (am besten durch Kippen nach Dunbar) die Platte gegossen werden.

Falls das zu untersuchende Wasser sehr kalt ist und in grösseren Mengen dem Agar-Agar zugesetzt werden soll, ist dasselbe im Wasserbad von 20 bis 30° C. vorzuwärmen, damit sich der flüssige Nährboden nicht so weit abkühlt, dass er starr oder klumpig wird.

5. Aufbewahrung der Platten.

Die Platten sind nach Erstarren des Agar-Agars vorsichtig umzukehren, so dass die den Nährboden enthaltende Schale nach oben zu liegen kommt, und in dieser Lage, vor Luftzutritt geschützt, bei Zimmertemperatur aufzubewahren. Damit der Nährboden in den umgekehrten Platten nicht rutscht, sind Petri'sche Schalen mit scharfen, nicht solche mit abgerundeten Ecken zu benutzen.

Die umgekehrten Platten sind dem Zutritte von Luftkeimen nicht mehr ausgesetzt; sie werden weit weniger durch Condenswasser und flüssige Ausscheidungen aus dem Nährboden gefährdet, und sie gestatten ohne Lageveränderung die directe Untersuchung unter dem Mikroskop. Oefteres ausgiebiges Bewegen der gegossenen Platten ist möglichst zu vermeiden, weil dabei leicht Condenswasser auf dem Nährboden sich verbreitet und ein Ueberwuchern der Platten begünstigt wird.

Allerdings ist die Verdunstung des Wassers aus den Agar-Agarplatten in dieser Lage etwas reichlicher als bei aufrechter Stellung der Doppelschalen; sie betrug aber bei einem im Mai d. J. hierauf gerichteten Versuche in reichlich 9 cm weiten Petri'schen Doppelschalen täglich durchschnittlich nur 0·233 grm (in aufrecht stehenden nur 0·156 grm), demnach in 3 Wochen nur 5 grm.[1]

Diese Menge ist so gering, dass eine Behinderung des Auswachsens von Colonieen in Folge von Concentration des Nährbodens innerhalb der Zeit, in der überhaupt noch neue Colonieen entstehen (2 bis 3 Wochen), bei Verwendung von mindestens 10 ccm zu jeder Platte ausgeschlossen ist.

Zur Erleichterung des Zählens der Colonieen benutzen wir von Warmbrunn, Quilitz & Co. in Berlin hergestellte Petri'sche Doppelschalen, deren Innenschale an der Aussenfläche eine feine Theilung in Quadratcentimeter eingeätzt ist.

Befindet man sich nicht im Besitz derartiger Glasschalen, so kann man sich das Zählen der Colonieen dadurch sehr erleichtern, dass man auf der Rückseite der Platten mit einem Glasschreibstift eine Anzahl sich kreuzender Linien zieht, in deren Rechtecken die einzelnen Colonieen leicht zu übersehen sind.

6. Zusammensetzung des Nähr-Agar-Agars.

Wir haben eine grosse Anzahl von Versuchen, selbstverständlich in jeder Versuchsreihe stets unter Benutzung ein und desselben Wassers, mit Nährböden angestellt, deren Zusammensetzung wir planmässig variirten, und zwar vom einfachen Agar-Agargallert[2] an bis zum gewöhnlichen

[1] Im Brütofen verdunsteten aus aufrecht stehenden Petri'schen Doppelschalen, die 1 Procent Nähr-Agar-Agar enthielten, täglich durchschnittlich 0·753 grm, aus umgekehrt stehenden, in die ein Wasserschälchen von 5·1 cm lichtem Durchmesser eingestellt war, nur 0·561 grm. Die Verdunstung erfolgte unabhängig von der zunehmenden Concentration des Nährbodens selbst im Brütofen so lange ganz constant, bis etwa die Hälfte des vorhandenen Wassers verdunstet war. Es empfiehlt sich daher bei langdauernden Züchtungen ausser dem Einstellen von Wasserschälchen in die Doppelschalen die Verwendung grösserer Mengen von Nähr-Agar-Agar.

[2] Schon in einfachem Agar-Agargallert entwickelt sich eine nicht unbeträchtliche Anzahl von Colonieen, und zwar ungefähr ebenso viele, wie in gewöhnlichem,



alkalischen Pepton-Nähr-Agar-Agar. Nachdem wir festgestellt, dass saure, alkalische, (0·8 Proc.) Kochsalz, Fleischbrühe und Leitungswasser enthaltende Nährböden ungeeignet sind, insbesondere der Zusatz von Fleischbrühe dem Auskeimen der Bakterien höchst hinderlich ist, setzten wir unsere Untersuchungen nur noch mit neutralen, fleischbrühefreien Agar-Agar-Nährböden unter Verwendung verschiedener Sorten Pepton, von Somatose, Traubenzucker, Kochsalz und phosphorsaurem Natron in wechselnden Verhältnissen und unter ausschliesslichem Gebrauch von destillirtem Wasser fort. Hierbei erhielten wir einen recht guten Nährboden für Wasserbakterien durch Kochen von

12·5 grm Agar-Agar,
10 „ Pepton. sicc. sine sale von Gehe & Co. in Dresden,
1 „ Traubenzucker,
0·5 „ amphoter reagirendem phosphorsauren Natron und
1 Liter Aqua destill.

Ein noch günstigeres Ergebniss erreichten wir schliesslich mit einer unter dem Handelsnamen Nährstoff Heyden aus der chemischen Fabrik von Heyden in Radebeul bei Dresden bezogenen Albumose. Dieser Stoff reagirt neutral und löst sich vollkommen in Wasser. — In einem Nährboden einfachster Zusammensetzung nach der Vorschrift

1 Liter Aqua destill.,
12·5 grm Agar-Agar,
7·5 „ Albumose[1]

entwickeln sich durchschnittlich etwa 20 Mal so viel Colonieen als in den üblichen alkalischen Bouillonnährböden.

Bei Herstellung dieses Nährbodens ist nur zu beachten, dass man die Albuminose auf das Wasser schüttet und dann darin einquirlt, die Lösung erst dem völlig klar gekochten Agar-Agar zufügt, das Gemisch unter Umrühren noch ein Paar Minuten — zur Verhütung des Anbrennens — vorsichtig kocht, und dasselbe in kleinen Mengen durch Watte oder Fliesspapier, am besten im Dampftopf oder in Heisswassertrichtern, heiss filtrirt.[2]

zur Züchtung pathogener Keime üblichem alkalischen Nähr-Agar-Agar. Mehrere Agar-Agarsorten verhielten sich in dieser Hinsicht verschieden; z. B. kamen in einem aus Jahrzehnte lang gelagerten gelblichen Stangen-Agar-Agar hergestellten Gallert nur etwa halb so viel Colonieen zum Vorschein wie in einem jüngst von Gehe & Co. in Dresden bezogenen weissen Faden-Agar-Agar.

[1] Der Nährboden darf zwischen 0·5 und 1 Procent Albumose enthalten.

[2] Die Auflösung der Albumose erreicht man am schnellsten, wenn man einen abgestrichenen Löffel Albumose in ein enges Becherglas schüttet, das 3 Löffel kaltes



Das Filtrat ist dann vollkommen klar und trübt sich auch nicht beim Sterilisiren.

Da die geringe Menge Flüssigkeit, die sich mitunter aus dem in Petrischalen ausgegossenen Nährboden ausscheidet, Albumose enthält, kommt es in den umgekehrt aufbewahrten Schalen ab und zu zur Verklebung des Randes der Innenschale mit dem Boden der Aussenschale und damit zur Bildung einer feuchten Kammer mit ihren Nachtheilen (Abscheidung von Flüssigkeit auf der Nährbodenoberfläche, Ueberwuchern des Nährbodens und Beschränkung des Sauerstoffzutrittes).

Es empfiehlt sich daher, zwischen beide Schalen ein knieförmig gebogenes Stückchen mehrfach zusammengelegten Fliesspapieres behufs Ventilation der Doppelschale einzuklemmen.

Hinsichtlich der Cultivirung von Anaëroben in Wasserplatten verweisen wir auf die Arbeit von Hesse.[1]

Die wichtigsten Ergebnisse unserer Untersuchung fassen wir in folgenden Sätzen zusammen:

1. Die Aussaat ist so einzurichten, dass nicht mehr Colonieen in einer Platte zur Entwickelung kommen, als mühelos und sicher gezählt werden können, also nicht über 100.

2. Jeder Einzelversuch hat im Ausgiessen von mindestens 5 Platten zu bestehen. Liefern diese 5 Platten nahezu übereinstimmende Zahlen, so kann das arithmetische Mittel derselben als wahrscheinlichster Werth gelten. Weicht die Zahl der Colonieen auf einer Platte von dem Mittelwerth um mehr als 100 Proc. ab, so ist diese Platte als unbrauchbar zu betrachten und besser ausser Betracht zu lassen.

3. Die Platten sind bei Zimmertemperatur im Dunkeln aufzubewahren so lange, bis keine neuen Colonieen mehr in ihnen auftreten und die aufgetretenen mit Sicherheit zu erkennen sind, also 2 bis 3 Wochen. Erst die nach diesem Zeitpunkt vorgenommenen Zählungen der Colonieen haben Anspruch auf Zuverlässigkeit. In Rücksicht auf die währenddem stattfindende Verdunstung sind für jede Platte mindestens 10 ccm Nährboden zu verwenden.

---

destillirtes Wasser enthält, hierauf die Albumose durch Schwenken des Glases mit dem destillirten Wasser benetzt und dann mittels eines kleinen Quirles zu Schaum quirlt, und schliesslich heisses destillirtes Wasser zufügt.

[1] Hesse, Ein neues Verfahren zur Züchtung anaërober Bakterien. *Diese Zeitschrift.* Bd. XI.



Zum Vergleiche bestimmte Zählungen sollten keinesfalls vor dem 10. Tage nach der Aussaat ausgeführt werden, weil die vor dieser Zeit erhaltenen Colonieenzahlen zu niedrig und zu verschieden ausfallen.

Jedenfalls ist bei Untersuchungen die Züchtungstemperatur und die nach der Aussaat verflossene Zeit sorgfältig zu berücksichtigen.

4. Nährgelatine ist als Material für quantitative Bestimmung der Wasserbakterien aufzugeben.

An ihre Stelle hat Nähr-Agar-Agar zu treten.

5. Die Doppelschalen sind umgekehrt, mit dem Nährboden nach oben, aufzubewahren. Man benutzt am vortheilhaftesten Petri'sche Doppelschalen, deren innerer an der Aussenfläche eine Theilung in Quadratcentimetern eingeätzt ist.

6. Der geeignetste Nährboden für bakteriologische Wasseruntersuchungen besitzt folgende Zusammensetzung:

Agar-Agar	1·25	Proc.
Albumose (Nährstoff Heyden)	0·75	„
dest. Wasser	98	„

Dieser Nährboden bedarf keiner Correctur durch Säure oder Alkali. Seine allgemeine Anwendung, die wir hiermit empfehlen, würde ermöglichen, die an verschiedenen Untersuchungsstellen gewonnenen Versuchsergebnisse unter einander zu vergleichen.



[Aus dem hygienischen Institut der K. Universität Cagliari.]

Ueber die pathogene Wirkung der Blastomyceten.

V. Abhandlung.

Ein Beitrag zur Aetiologie der bösartigen Geschwülste.

Von

Prof. **Francesco Sanfelice.**

(Hierzu Taf. IV—VIII.)

I.

Während in den letzten Jahren zahlreiche Untersuchungen über die pathogene Wirkung der Blastomyceten, sowohl in morphologischer als experimenteller Beziehung, veröffentlicht worden sind, giebt es doch fast gar keine Publicationen über die pathogene Wirkung derselben Mikroorganismen in Bezug auf die Aetiologie der bösartigen Geschwülste, und die wenigen Beobachtungen, welche hierüber mitgetheilt werden, laufen mehr darauf hinaus, die Wichtigkeit der Blastomyceten für die Genese der bösartigen Geschwülste in Abrede zu stellen, als sie zu bestätigen. Es findet diese Erscheinung ihren Grund darin, dass zwar fast zu viel Arbeiten, welche sich lediglich auf die Morphologie stützen, geliefert worden sind, sehr wenige aber auf experimenteller Basis beruhen. Das ledigliche Betonen des morphologischen Standpunktes hat die Gegner, an Stelle sie zu überzeugen, vielmehr dazu veranlasst, ebenfalls auf morphologischer Basis beruhende Arbeiten zu veröffentlichen, um Alles das wieder umzustossen, was man durch die mikroskopische Beobachtung sicher zu stellen versucht hatte. Man kann daraus leicht verstehen, wie jener einseitige Standpunkt zu verdammen ist. Es ist von ihm aus nicht gelungen, und wird von ihm aus nie gelingen, die in Rede stehende Frage

zu lösen. Lediglich auf experimentellem Wege, unter strengster Beobachtung der von der Wissenschaft vorgeschriebenen Methoden, kann festgestellt werden, ob die Blastomyceten in der That eine Bedeutung für die Genese der Geschwülste haben. Im Uebrigen darf man nicht den Stab brechen über alle jene Forscher, welche bei ihrer Voreingenommenheit für die Blastomyceten-Theorie der Geschwülste mit vielen oder wenigen mikroskopischen Beobachtungen versucht haben, auch ihrerseits einen Beitrag zu der neuen Idee zu liefern, aber andererseits darf man auch die Gegner nicht tadeln, welche eifrig gegen Arbeiten ankämpften, welche, weil nicht auf Experimente gestützt, der Kritik nicht Stand zu halten vermochten. Es wird aber nun Zeit, endlich einmal nur auf morphologischer Basis und vielfacher Färbung beruhende Arbeiten bei Seite zu lassen, und ein für allemal den experimentellen Weg einzuschlagen, als den einzigen, welcher zu praktischen Ergebnissen führen kann. Aus diesem Grunde will ich mich auch nicht unnützer Weise damit aufhalten, die auf morphologische Basis gestützten Arbeiten hier durchzugehen, ich will vielmehr nur diejenigen besprechen, welche sich auf Experimente stützen und wirkliche Beiträge zur Erkenntniss der pathogenen Wirkung der Blastomyceten geliefert haben.

Busse[1] hat in seiner letzten Arbeit alle Beobachtungen von sich selbst und Anderen über das pathogene Vermögen der Blastomyceten zusammengetragen und bringt dabei auch neue Beobachtungen, über welche zu berichten ich nicht unterlassen kann. Bei vielen Geschwülsten suchte er die zelligen Einschlüsse dadurch zu vermehren, indem er kleine Stücke von diesen Geschwülsten in Nährflüssigkeiten brachte und nach einigem Aufenthalte im Brutofen zertheilte. Es ist ihm mit dieser Methode aber niemals gelungen, Culturen von Organismen zu erhalten, welche als Zelleinschlüsse hätten angesprochen werden können. Er hat auf diese Weise sowohl in flüssigen als festen Nährböden immer nur Bacillen und Kokken wachsen sehen. Er stellte weiter Impfversuche mit kleinen Stücken von Lymphosarcomen bei Thieren an, aber die Resultate waren vollkommen negative. In gleicher Weise negativ blieben die Culturversuche von mehreren Carcinomen aus geschwürigen Brüsten in festen Nährböden. Auch mit Nasenpolypen wurden Versuche gemacht, über welche der Verfasser, wie folgt, berichtet:

„Ferner habe ich des Genaueren die als Polypen bezeichnete Wucherung der Nasenschleimhaut bei chronischen Katarrhen untersucht. Man findet nämlich ganz regelmässig im Binde- oder Schleimgewebe ganze Gruppen von hellglänzenden, einfach contourirten Kugeln, die in der Grösse

[1] Busse, *Die Hefen als Krankheitserreger*. Berlin 1897.



schwanken, etwa zwischen dem Umfange rother Blutkörperchen bis zu dem grosser Zellkerne. Diese hellglänzenden Kugeln sehen aus wie Fett, lassen sich aber weder bei Alkoholhärtung, noch in Aether oder Chloroform extrahieren. Gegen Natronlauge sind sie resistent und färben sich vielfach wie Kerne mit Anilinfarben. Bei Züchtungsversuchen ist es mir nun wiederholentlich gelungen, von solchen mir sofort nach der Exstirpation durch die Liebenswürdigkeit des Hrn. Prof. Dr. Strübing in sterilen Schälchen eingelieferten Polypen Culturen von Hefen zu gewinnen. Aber neben diesen Hefen sind dann auf einem oder dem anderen Röhrchen auch andere Mikroorganismen mit aufgegangen. Man kann eben niemals mit Sicherheit ausschliessen, dass die aus dem saftreichen, ödematösen Gewebe ausgetretene Flüssigkeit mit der Schleimhautoberfläche in Berührung kommt, und dass die entweder hier oder in den Drüsengängen befindlichen Organismen mit verimpft werden. Wenn aber diese Möglichkeit zugegeben werden muss, dann kann man natürlich auch den Einwand nicht widerlegen, dass die Hefen ebenfalls von der Oberfläche stammen, noch beweisen, dass sie mit dem im Gewebe liegenden, glänzenden Kugeln identisch sind und mit der Entstehung der häufig recidivirenden Wucherungen in ursächlichem Zusammenhange stehen. In den drei Fällen, wo mir die Aussaaten positive Resultate ergaben, erhielt ich dieselbe weisse Hefe von runder Form. Injectionen von Reinculturen bei den verschiedenen Thierarten verliefen reactionslos. Ich halte aber trotz des negativen Ausfalles der Impfversuche keineswegs für erwiesen, dass die gewonnenen Hefen nur saprophytischer Natur und unschuldig sind. Sollte sich im Verlaufe weiterer Untersuchungen herausstellen, dass die Hefen thatsächlich die Erreger sowohl der chronischen Kartarrhe als auch der sich in deren Gefolge einstellenden Polypenbildung sind, dann ist jedenfalls zweierlei auffallend, erstens, dass die Hefen sämmtlich nackt, d. h. ohne Andeutung einer Kapsel im Gewebe liegen, zweitens, dass in der unmittelbaren Umgebung dieser vermeintlichen Hefen kaum eine Spur von kleinzelliger Infiltration zu sehen ist. Die vielfachen Wucherungsbezirke sind, wenigstens in vielen Fällen, räumlich so weit von den Gruppen der fraglichen Gebilde entfernt, dass man nicht recht eine Beziehung zwischen beiden wahrnehmen oder folgern kann."

Busse machte auch noch Versuche mit Sarcomen, indessen gleichfalls mit negativem Resultate. Er berichtet darüber: „Es kommen an der Scheide, bezüglich an der Portio vaginalis cervicis uteri hin und wieder, besonders bei kleinen Kindern, traubenförmige Sarcome vor, die in mehr als einer Beziehung sowohl für den Pathologen, wie den Kliniker interessant sind. Diese Tumoren wachsen ganz gewöhnlich zunächst über längere Zeit sehr langsam, nämlich so lange, als sie nicht gereizt werden.



Nach dem Versuche, sie zu entfernen, setzt aber meistens ein rapides Wachsthum ein, das zu einer umfangreichen Ausbreitung der Geschwulst, sowohl in loco, wie auch zur Bildung massenhafter Metastasen führt, die dann im Verlaufe weniger Wochen mit dem Tode des Patienten endigen. Für den Pathologen bieten diese Fälle anatomisch das Besondere, dass sich darin allerlei Raritäten, zumal quergestreifte Muskeln neben wirklichem Sarcom- und Schleimgewebe finden. Ein derartiger Tumor, der am 16. Juni 1895 auf der hiesigen gynäkologischen Klinik bei einem 4jährigen Mädchen exstirpirt wurde, wurde noch lebenswarm unserem Institute eingeliefert. Bei der Untersuchung des frischen Präparates fielen mir die ungewöhnlich zahlreichen, grünlich schillernden, leuchtenden Kugeln und Kügelchen auf, die zum Theile doppelt kontourirt waren und mich zu einer genaueren Untersuchung veranlassten. Auf den verschiedenartigsten Nährböden wurde ausgesät, und es wuchsen auf Pflaumendekoktgelatine mehrere weisse Hefecolonieen. Bakterien gingen nicht auf. Die einzelnen Hefen sind kreisrund, etwas kleiner wie die von dem Fall Kapp gezüchteten, erst bei älteren Culturen tritt ganz allmählich eine Membran hervor, die niemals so dick wird, wie die bei den zuerst gezüchteten Hefen. Ich habe nun von den Culturen kleine Mengen den Thieren auf die verschiedenste Art beigebracht, z. B. durch Injection unter die Haut oder in die Ohrvene von Hunden und Kaninchen, dann habe ich Hunden davon kleine Mengen unter das Periost der Ulna gethan und die Wunde vernäht, einem anderen Hunde habe ich 1 ccm Schwemmcultur in den Hoden eingespritzt, alles verlief reactionslos. Ebenso resultatlos blieben Injectionen in die vordere Augenkammer und wochenlange, mechanische Einreibungen der Hefen in die absichtlich schlecht, d. h. unter Bildung zahlreicher kleiner Erosionen rasirte Rückenhaut. Am 9. December 1895 brachte ich vier weissen Mäusen je eine Platinöse der Cultur unter die Haut des Rückens. Davon starb eine Maus einen Tag später, zwei andere starben nach einigen Wochen, ohne dass sich etwas Positives nachweisen liess, die vierte endlich starb im Juni 1896, also nach 6 Monaten. Ich fand an der Impfstelle nichts Pathologisches, wohl aber eine ausgebreitete Wucherung des interstitiellen Gewebes in der Lunge mit zahlreichen grossen Zellen, in denen die grünlich schillernden Hefen gewöhnlich zu mehreren lagen, aber ohne Kapselumkleidung. Durch Aussaat auf Nährböden liess sich die Hefe wieder züchten. Diese Maus ist das einzige Thier geblieben, bei welchem auf die Einspritzung hin eine Reaction erfolgt ist. Ich habe die Thierversuche besonders bei den Mäusen sowohl mit den Abimpfungen der alten Culturen, wie auch mit den von der Maus gezüchteten Hefen wiederholt, es ist mir aber nicht wieder gelungen, durch Verimpfungen Thiere krank zu machen. Ich kann also nur die Thatsache constatiren,



dass ich von einem malignen Sarcom Hefen züchten konnte, die sich auf Mäuse übertragen, durch 6 Monate hindurch lebend in dem Thierkörper erhalten und zu entzündlichen Wucherungen in der Lunge die Veranlassung gegeben hatten. Ich muss aber hinzufügen, dass auch in diesem Falle durch die Cultur nicht mit absoluter Gewissheit dargethan werden konnte, dass die Hefen der Cultur mit den im Gewebe liegenden grünlich schillernden Kügelchen identisch, oder dass diese die Ursache der Geschwulst sind. Es kann nämlich bei der Kleinheit der einzelnen Beeren des traubigen Tumors der Einwand nicht völlig zurückgewiesen werden, dass die Hefen etwa von der Oberfläche entstammen. Nach Grösse und Aussehen der Hefen bin ich für meine Person allerdings davon überzeugt, dass die Hefen der Cultur mit den fraglichen Körpern des Tumors identisch sind, doch sind ja leider die Thierversuche nicht derart, dass sie nun auch als beweisend dafür gelten könnten, dass die Hefen auch die Ursache des Sarcoms sein müssen."

In gleicher Weise negative Resultate erhielt der Verfasser bei Einimpfungen der Culturen von Blastomyceten, welche er aus Epitheliomen der Haut und der Lippe erhalten hatte.

Aus allen den bisher berichteten Versuchen zieht Busse den Schluss, dass „auch in diesem Falle die Aetiologie der untersuchten Geschwülste durch die Cultur allein nicht stringent zu beweisen ist, und sind wir deshalb wiederum auf Thierversuche angewiesen." Sehen wir nun, was der Verfasser für Schlüsse aus den Impfversuchen mit Thieren gefolgert hat.

„Einer schon stark kachektischen Hündin wurden durch Wochen hindurch," so schreibt Busse, „sowohl mechanisch Culturen in die mit vielen Epithelverlusten versehene Haut, wie auch in die Brustdrüse eingerieben und eingespritzt. In Folge dieser sehr erheblichen Misshandlung der Mamma trat eine vorübergehende, entzündliche Schwellung mit Absonderung von etwas Eiter und eine Hyperplasie der zugehörigen Lymphdrüsen ein, die bis zu dem $1^1/_2$ Monate nach der ersten Injection erfolgenden Tode bestehen blieb. Aber bei der Section gelang es nicht, die Hefen wieder aus diesen entzündlich veränderten Theilen zu züchten, noch auch aus kleinen, linsengrossen, weissen Herden in beiden Nieren. Die mikroskopische Untersuchung dieser letzteren ergab ein Bild interstitieller Entzündung mit Körnchenzellen. wie es auch Sanfelice in seiner dritten Abhandlung abbildet. In diesen Herden waren auch Gebilde zu sehen, die man eventuell für Hefen hätte halten können. Doch habe ich, eingedenk des ausserordentlich häufigen Vorkommens derartiger interstitieller Entzündungsherde in den Nieren alter Hunde, grosse Bedenken, ob die hier vorliegenden mit der Hefeinjection überhaupt etwas zu thun haben." Aus allen dem, was Verfasser auseinander gesetzt hat, schliesst er, „dass



in einer grossen Zahl von Geschwülsten und anderen pathologischen Gewebsveränderungen Hefen angetroffen sind und sich durch die Cultur daraus isoliren lassen.“ In Bezug auf die Bedeutung, welche die Blastomyceten für die Genesis der Geschwülste haben können, behauptet Busse, dass noch fernere Untersuchungen nöthig sind. Busse hat also, wenn wir Alles zusammenfassen, aus einigen bösartigen Geschwülsten des Menschen und anderen pathologischen Bildungen Blastomyceten isolirt, hat sie in reiner Cultur Versuchsthieren eingeimpft und bald damit pathologische Veränderungen entzündlicher Natur hervorgerufen, bald gar keine Wirkung damit erzielt. Es hat also die Frage nach der Aetiologie der bösartigen Geschwülste und der pathogenen Wirkung der Blastomyceten durch die Untersuchungen von Busse wenig Förderung erfahren. Die geringe Bedeutung der Resultate dieser neuen Untersuchungen Busse's wird indessen aufgewogen von den zahlreichen kritischen Bemerkungen, welche er gegen mich und jene Forscher, welche bei ihren Untersuchungen über das Vorkommen von Blastomyceten in Geschwülsten vom morphologischen Gesichtspunkte ausgehen, richtet. Was meine Person anlangt, so kann ich, ohne fürchten zu müssen, widerlegt zu werden, versichern, dass ich in allen meinen bisher veröffentlichten Arbeiten immer ganz ausführlich die Untersuchungen Busse's citirt habe und niemals irgend etwas ausgelassen habe, wodurch etwa der Werth seiner Arbeiten geschmälert worden wäre. Ich habe nie daran gedacht, ihm die Priorität davon streitig zu machen, einen für den Menschen pathogenen Blastomyceten gefunden zu haben, eine Priorität, deren er sich nur bis zu einem gewissen Grade rühmen kann, da erstlich lange Zeit vor seiner Publication der Saccharomyres albicans bekannt war, und Klemperer, Roux und Linossier gezeigt hatten, dass die Einimpfung einer reinen Cultur davon in die Ohrvene eines Kaninchens eine allgemeine Mykose hervorruft, welche das betreffende Thier tödtet, da ferner Virchow, Wagner und Schworb nachgewiesen hatten, dass unter ganz besonderen Bedingungen der Pilz des Maiglöckchens, Saccharomyces albicans von Audry genannt, bei dem Menschen in den Blutkreislauf eindringen und eine allgemeine Infection veranlassen kann, und endlich, weil das Verdienst erkannt zu haben, dass es sich in dem Falle von Busse um einen Blastomyceten handele, zum Theil auch Löffler gebührt, wie der Verfasser selbst in seiner ersten Mittheilung angiebt. Dass ich die Bedeutung und den Werth der Arbeit von Busse sehr wohl gewürdigt habe, giebt Verfasser selbst auf Seite 73 der genannten Arbeit zu, wo er sagt: „Dementsprechend bezieht sich Sanfelice auch schon in seinen allerersten vorläufigen Mittheilungen ausführlich auf meine Arbeiten, lässt es allerdings unerwähnt, ob er etwa erst durch meine Untersuchungen direct zu



seinen Experimenten angeregt worden sei." Der Verfasser befindet sich indessen im Irrthume, wenn er glaubt, dass es seine vorläufige Mittheilung gewesen ist, welche mich dazu veranlasst hat, das Studium der Blastomyceten zu beginnen. Ich habe das Studium dieser Mikroorganismen viel früher angefangen, als Busse auf seinen beschriebenen Fall gestossen ist. Er hat nur nöthig, die Annales de Micrographie vom Jahre 1894 aufzuschlagen und wird dort eine Arbeit von mir über die Morphologie und Biologie der Blastomyceten finden, eine Arbeit, welche ich unternommen hatte, um mich für das Studium der pathogenen Wirkung dieser Mikroorganismen vorzubereiten. Wenn ich also das Verdienst von Busse, einen für den Menschen pathogenen Blastomyceten gefunden zu haben, anerkenne, so kann ich doch seine Angriffe gegen mich in keiner Weise berechtigt finden, und zwar das um so weniger, da ich bei dem Studium der pathogenen Wirkung der Blastomyceten von Gesichtspunkten ausgegangen bin, welche den von ihm befolgten, diametral entgegengesetzt sind, wie er ja auch selbst auf Seite 60 seiner Arbeit sagt: „Die zweite Gruppe von Arbeiten über pathogene Hefen geht von einem anderen Ausgangspunkte aus. Während in den bisher mitgetheilten eine Erkrankung der Menschen und der Thiere auf eine Hefeart als letzte Ursache zurückgeführt worden ist, nehmen die im Folgenden abgehandelten Arbeiten die alten früheren Versuche wieder auf, die vorhandenen, bekannten Hefen auf ihre Pathogenität noch einmal durchzuprüfen, nachdem einmal festgestellt worden ist, erstens, dass es thatsächlich pathogene Hefen giebt, und zweitens, in welcher Form dieselben im Thierkörper auftreten. Der erste, der sich der Aufgabe mit Erfolg unterzog, war Sanfelice."

Experimentelle Untersuchungen, welche sehr acurat angestellt wurden, sind diejenigen von Gilchrist[1] allein, und von ihm und Royal Stokes[2] zusammen. Diese Forscher fanden bei einigen pathologischen Veränderungen der Haut des Menschen, welche mit den Charakteren von lupösen Affectionen auftraten, Blastomyceten, welche in reiner Cultur isolirt und in Bezug auf ihre pathogene Wirkung studiert werden konnten. Ganz seltsam ist es, dass Gilchrist die runden, charakteristischen Elemente, welche er bei diesen Hautveränderungen fand und cultivirte, Blastomyceten tauft, die ganz ähnlichen Formen bei anderen besonderen Hautaffectionen dagegen für Protozoen erklärt. Es ist sicher von grosser

[1] Gilchrist, A case of blastomycetic dermatitis in man. *The Johns Hopkins Hospital Reports.* Vol. I. p. 1269.

[2] Gilchrist u. Royal Stokes, A case of pseudolupus vulgaris caused by a blastomyces. *The Journal of Experimental Medicine.* 1898. Vol. III. p. 53.



Bedeutung, dass bei chronischen Entzündungsprocessen der Haut, welche durch kleinzellige Infiltration des Chorions charakterisirt sind, Blastomyceten gefunden wurden und cultivirt werden konnten, welche im Stande waren, pathologische Veränderungen bei Versuchsthieren hervorzubringen. Die Beobachtungen Gilchrist's bestätigen zum Theil diejenigen von Gonella und Guarnieri, welche Blastomyceten bei der tracomatösen Conjunctivitis gefunden haben, von Secchi, welcher sie bei der Cheloid-Acne beschrieb, von De Simoni, welcher sie bei der Hypertrophie der Tonsillen sah, von Mazza, der neuerdings eine grosse Zahl von Blastomyceten beim Rinosclerom gefunden hat. Es würde durchaus nicht wunderbar sein, wenn man auch eines schönen Tages von diesen pathologischen Processen Blastomyceten in reiner Cultur isolirte und mit ihnen identische Processe hervorriefe.

Auch Posadas[1] hat Parasiten, welche er bei einer pathologischen Veränderung der menschlichen Haut fand, und welche nach seinen Abbildungen das Aussehen von Blastomyceten haben, als Protozoen beschrieben.

Von Wichtigkeit ist die Arbeit von Gotti und Brazzola,[2] die bei einer Stute, welche sie zuerst in Verdacht hatten, am Rotz erkrankt zu sein, die von Zeit zu Zeit aus der linken Nase herausfliessenden Schleimflocken mit dem Mikroskope untersuchten und dabei einen besonderen Blastomyceten fanden, welcher von den bisher beschriebenen pathogenen Blastomyceten sich sowohl durch seine culturellen Figenschaften, als auch durch seine Wirkungsweise, besonders auf Meerschweinchen, unterscheidet. Die Stute wurde, nachdem man viele Heilmittel ohne Erfolg angewendet hatte, geopfert, und bei der Section des Cadavers wurde in dem obersten Theile der linken Fossa nasalis eine Geschwulst gefunden. Diese Geschwulst hatte alle ethmoidalen Windungen der betreffenden Seite derartig in Mitleidenschaft gezogen, dass diese nicht mehr zu erkennen waren. Sie erstreckte sich auf den mittleren Gang zwischen der Windung des Ethmoideums und der des Kiefers in der Gestalt einer grossen Polypenbildung, welche unregelmässig abgerundet war und zum grössten Theile in einer Einsenkung des oberen Theiles der Ethmoidalwindung lag, die an dieser Stelle verdrängt und so nach aussen gedrückt war, dass sie bedeutend über die innere Wand des oberen Maxillarsinus hervorragte. Nach oben zu verlängerte sich die Geschwulst in den palatinalen und sphenoidalen Sinus derselben Seite, auch sogar in diejenigen der anderen Seite, und

[1] Posadas, *Psorospermiosis infectante generalizada.* Buenos Aires 1897.

[2] Gotti e Brazzola, Sopra un caso di blastomicosi nasale in una cavalla. *Memorie della R. Accad. delle Scienze dell' Istituto di Bologna.* 1897. Ser. V. T. 6.



füllte diese unter Verdünnung und Ausbuchtung der Knochenwände vollkommen aus. Die grosse Geschwulst hatte im Ganzen genommen das Aussehen einer gelatinösen Bildung, welche einigermassen an ein Myxosarcom erinnerte. Der Parasit zeigte sich nach seiner Isolirung sehr pathogen für Meerschweinchen, bei denen die pathologischen Veränderungen ganz besonders das Lymphgefässsystem betrafen. Bei anderen Thieren ergab die Impfung keine in Betracht kommenden Resultate, oder es traten pathologische Veränderungen ein, welche eine Zeit lang auf die Impfstelle beschränkt blieben und später entweder ganz verschwanden, oder unbedeutende Rückstände hinterliessen. Nach Ansicht der Verfasser ruft dieser Blastomycet keine Neoplasie, in der bisher allgemein zugelassenen anatomisch-pathologischen Bedeutung, hervor, wohl aber eine sogenannte Granulations-Geschwulst, welche identisch ist mit jener, die bei einigen specifischen Entzündungen, z. B. bei der durch den Tuberkelbacillus oder besser noch durch den Actinomyces verursachten, auftritt.

Bonome[1] hat kürzlich eine Reihe von Untersuchungen veröffentlicht, durch die er einerseits die Häufigkeit des Vorkommens von Blastomyceten in Geschwülsten der verschiedensten Struktur, andererseits die biologische Bedeutung, welche man den genannten Blastomyceten beimessen kann, festzustellen suchte. Zuerst hat er seine Aufmerksamkeit auf die Krebse und Sarcome gerichtet, welche in einer gewissen Periode ihrer Entwickelung mit einem Male eine allgemeine Metastase hatten eintreten lassen, und zwar unter der Gestalt einer Eruption von Knötchen, in ähnlicher Weise, wie man es beim Tuberkel beobachtet. Ausser diesen Fällen, welche der Zahl nach drei betragen, studierte er 23 andere Krebse und Sarcome mit verschieden langem Verlaufe, bei denen keine Metastase eingetreten oder doch schon seit einiger Zeit vorüber und nicht allgemein geworden war, sondern sich auf secundäre, ziemlich grosse Knoten beschränkte. Unter 23 untersuchten Geschwülsten ergaben 7, nämlich 6 Krebse und 1 endotheliales Sarcom, in Bezug auf das Vorkommen von Blastomyceten ein positives Resultat. Die aus der Arbeit gezogenen Schlüsse sind folgende:

1. Die Blastomyceten kommen ziemlich selten in den Geschwülsten vor. Bedeutend leichter sind sie indessen zu finden in den bösartigen, in Schwärung übergegangenen Geschwülsten, welche in den oberflächlichen Theilen des Körpers ihren Sitz haben, und in denen, welche local recidiviren und eine vielfache Metastase in Form von Miliar-Knötchen verursachen.

[1] Bonome, Sull' importanza dei blastomiceti nei tumori. *Atti del R. Istituto Veneto di Scienze.* Lettere ed Arti. 1898. T. IX.



2. Es ist nicht bewiesen, dass ihr Vorkommen mit der Genesis der Geschwülste eng verknüpft ist, man muss vielmehr annehmen, dass sie accidentell in die bereits entwickelten Geschwülste eindringen. Ein solches Eindringen kann intra vitam durch die Geschwüre oder auf dem Wege der Blutbahnen stattfinden. Es ist nicht ausgeschlossen, dass in manchen Fällen erst nach dem Tode eine Diffusion stattgefunden hat.

3. Einige der aus Krebsen und Sarcomen des Menschen oder anderer Thiere isolirten Blastomyceten besitzen ein pathogenes Vermögen für gewisse Thiere, ein Vermögen, welches sich in der Gestalt richtiger, subacuter Infectionen mit Neubildungen im Bindegewebe, ähnlich wie sie bei denen entzündlicher Natur auftreten oder unter der Form einfacher Hyperplasien bethätigt.

4. Keine Varietät der Blastomyceten, welche aus bösartigen Geschwülsten isolirt wurde, hat bis heutzutage auf experimentellem Wege richtige Geschwülste hervorgebracht, welche denen des Menschen, aus denen die Blastomyceten herstammten, gleich wären, auch nicht dann, wenn die zu den Versuchen ausgewählten Thiere Arten angehörten, welche bisweilen von selbst dem Befallenwerden durch den Krebs unterworfen sind.

5. Die Blastomyceten, welche aus dem menschlichen Krebse isolirt werden, finden in dem Krebsgewebe anderer Individuen, auch sogar bei der menschlichen Species selbst, recht wenig günstige Bedingungen für ihre Entwickelung und für ihr Wachsthum; sie können indessen innerhalb des Krebsgewebes lebend erhalten werden, sogar mehrere Monate hindurch.

6. Werden Culturen von Blastomyceten, welche aus menschlichen Krebsen isolirt wurden, tumultuarisch in andere menschliche Krebse eingeführt, in denen bisher keine Blastomyceten waren, so bewirken sie eine Erweichung der Geschwulst durch rapide Degeneration ihrer Elemente.

7. In Anbetracht dieser Modificationen und der Menge der Blastomyceten, welche sich in den jungen metastatischen Knötchen in den Fällen von zerstreuter Miliar-Carcinose finden, erscheint die Hypothese, dass die Blastomyceten zur Diffusion der Neoplasmen beitragen können, nicht unbegründet.

Ich habe die Schlussfolgerungen der Arbeit Bonome's in extenso wiedergegeben, damit der Leser selbst sich ein Urtheil darüber bilden kann, wie die Untersuchungen dieses Autors vielmehr dazu geeignet sind, die Ideen über die Genesis der bösartigen Geschwülste in ihrer Beziehung zu den Blastomyceten zu verwirren, als kurz und bündig die Bedeutung dieser Wesen für die Aetiologie der Neoplasmen zu bestreiten oder zu bestätigen. So behauptet der Verfasser vor allen Dingen, dass die Blastomyceten sich ziemlich selten in den Geschwülsten finden, und doch ist er vom Glücke so begünstigt worden, dass er sie aus 7 von den 23



untersuchten Geschwülsten isoliren konnte. Ein solches Glück ist, so viel ich weiss, bis jetzt noch keinem einzigen Forscher widerfahren, und es lässt, ich gestehe es offen, bei mir den Verdacht aufkommen, dass die isolirten Blastomyceten sich nicht im Innern der Geschwülste befanden, wie der Verfasser vermuthet, und dort zufällig hineingedrungen waren, sondern dass sie vielmehr von der Oberfläche der Geschwulst stammten und dahin aus der Luft gefallen waren. Giebt man zu, dass die Blastomyceten durch Zufall in die untersuchten Geschwülste gelangt sind, so wird das negative Resultat der Impfungen der Thiere verständlich. Aber dieses negative Resultat würde sich auch erklären — aus Gründen, welche ich später auseinandersetzen werde —, selbst wenn der Verfasser die absolute Gewissheit gehabt hätte, dass die isolierten Blastomyceten direct von der Geschwulst herrührten und mit ihr in einem so engen Zusammenhange gestanden hätten, wie die Ursache zur Wirkung. Es wäre viel logischer gewesen, wenn Bonome die aus den Geschwülsten isolirten Blastomyceten auf eine Verunreinigung zurückgeführt hätte, als anzunehmen, dass sie sich wirklich in der Masse der Geschwulst befunden haben, aber zufällig im Leben oder nach dem Tode dort hineingedrungen seien. Warum mussten nun gerade allein die Blastomyceten und nicht auch andere Mikroorganismen, welche doch in so äusserst zahlreicher Menge auf der Oberfläche des Körpers und in der Luft anzutreffen sind, sich in die Geschwulst hineingedrängt haben? Handelt es sich vielleicht, wie der Verfasser will, um eine Symbiose zwischen diesen Wesen und den Zellen der Geschwulst? Wenn es sich nicht um eine richtige Symbiose handelte, so könnte ich mir nicht erklären, warum die Blastomyceten sich allein in der Geschwulst und nicht in der Niere, der Leber, der Milz vorfinden sollten, um so mehr, als, wie der Verfasser selbst behauptet, das Eindringen während des Lebens durch die Geschwüre oder vermittelst der Blutbahnen stattfinden kann.

Es besteht ferner ein Widerspruch zwischen der zweiten und der siebenten Schlussfolgerung. Während in der zweiten Schlussfolgerung Bonome das Vorkommen der Blastomyceten in den Geschwülsten für accidentell erklärt, so sagt er in der siebenten Schlussfolgerung, dass in Anbetracht der Menge der Blastomyceten, welche sich in den jungen metastatischen Knötchen in Fällen von zerstreuter Miliar-Carcinose finden, ihm die Hypothese nicht unbegründet erscheint, dass die Blastomyceten zur Verbreitung der Neoplasmen beitragen können. Wenn nun also der Verfasser die Blastomyceten für accidentell erklärt, in welcher Weise können sie die Neoplasmen verbreiten? Es ist wirklich seltsam, dass die pathologischen Anatomen, welche doch gerade die grösste Befugniss haben sollten, Untersuchungen zu liefern, die entweder absolut die



Wichtigkeit der Blastomyceten für die Entstehung der bösartigen Geschwülste verneinen oder sicher stellen, die vorliegende Frage weder fördern noch zurückdrängen, sondern lediglich dazu beitragen, Unsicherheit und Confusion in Bezug auf diesen Gegenstand anzustiften.

Nach den oben genannten Arbeiten, besonders durch diejenigen von Gilchrist und Brazzola, wissen wir heute, dass zweifelsohne Arten pathogener Blastomyceten vorkommen, welche im Stande sind, myxomatöse Geschwülste (Fall von Brazzola), oder chronische Neubildungen der Haut entzündlicher Natur hervorzubringen. Was die Frage nach der Entstehung der bösartigen Geschwülste anlangt, so ist auf experimentellem Wege noch gar nichts erwiesen, und fast alle Autoren zeigen, ohne irgend einen dagegen sprechenden Grund vorzubringen, übereinstimmend die Neigung, die Thatsache, dass die Blastomyceten fähig sind, bösartige Geschwülste hervorzubringen, zu verneinen.

Im Verlaufe der letzten Jahre habe ich mein Studium über diesen Gegenstand fortgesetzt, beschränkte mich allerdings dabei auf den Sacchoromyces neoformans, welcher mir gleich von den ersten Impfungen an Hunden an derartige Resultate geliefert hat, dass ich hoffen zu dürfen glaubte, einen weiteren Beitrag zur Frage nach der Entstehung der bösartigen Geschwülste liefern zu können. Gleich vom Anfange meiner Untersuchungen an war ich der Ueberzeugung, dass ich, wenn ich mit Nutzen arbeiten wollte, mich auf das Studium weniger Arten beschränken musste, da ich sonst, wenn ich über mehrere Blastomyceten arbeitete, Gefahr lief, unnütz Zeit zu verlieren.

In einer der früheren Arbeiten[1] sprach ich aus, dass man zur Erforschung der Aetiologie der bösartigen Geschwülste zwei Wege einschlagen könne: einen directen Weg, indem man Thiere, welche für derartige Geschwülste empfänglich sind, mit der Substanz von bösartigen Geschwülsten des Menschen impfte, oder aus den letzteren die Parasiten in reiner Cultur isolirte und sie den nämlichen Thieren einimpfte, oder einen indirecten Weg, indem man aus dem umgebenden Medium die Blastomyceten zu isoliren suchte und den Thieren einimpfte. Von Anfang an habe ich den einen wie den anderen Weg verfolgt, kam aber sehr bald zur Ueberzeugung, dass vermittelst des ersten Weges keine positiven Resultate zu erhalten waren, und bestätigte so die Ergebnisse, welche ich in meiner 3. Abhandlung[2] mitgetheilt hatte. So oft ich von

[1] Sanfelice, Sull' azione patogena dei blastomiceti come contributo alla etiologia dei tumori maligni. *Il Policlinico.* 1895. Vol. II.

[2] Derselbe, Ueber die pathogene Wirkung der Blastomyceten. 3. Abhandlung. *Diese Zeitschrift.* 1896. Bd. XXII.



meinem Collegen, Hrn. Prof. Biondi, und von Hrn. Dr. Binaghi von Menschen exstirpirte Geschwülste zugeschickt bekam, und so oft mir Hr. Dr. Loi, Director des Schlachthauses, in liebenswürdigster Weise Geschwülste von Rindern und Pferden überliess, habe ich niemals unterlassen, zahlreiche Versuche damit anzustellen, vorausgesetzt immer, dass die Geschwülste nicht in Schwärung begriffen waren. Es würde zu weit führen und unnütz sein, hier das Verzeichniss der einzelnen Fälle und der Experimente, welche sich daran anschlossen, zu geben, ich will nur sagen, dass ich stets von jeder Geschwulst, und zwar von verschiedenen Stellen derselben, unter Beobachtung aller Regeln, welche zur Vermeidung etwa möglicher Verunreinigungen geboten sind, verschiedene Stücke nahm und sie unter minutiöser Zerkleinerung in Tuben mit sterilisirtem Wasser emulsionirte. Die so gewonnenen Emulsionen impfte ich zum Theil in verschiedener Weise Hunden, Meerschweinchen und Kaninchen ein, zum Theil benutzte ich sie zur Herstellung von Culturen, indem ich der Emulsion in sterilisirtem Wasser für die Entwickelung der Blastomyceten sich sehr gut eignende Nährflüssigkeiten oder feste Nährböden, wie Gelatine und Agar, welche unter Benutzung derselben Nährflüssigkeiten hergestellt worden waren, zusetzte. In den letzteren Fällen wurde Alles in Petri'sche Schalen gegeben. Ich habe die Emulsionen Hunden in die Jugularis, oder in die Hoden, oder in die Brustdrüsen, oder in das Unterhautbindegewebe, oder in die Bauchhöhle eingeimpft. In keinem dieser Fälle habe ich das Angehen der Geschwulst beobachtet. Einige Thiere verfielen einer weitgehenden Abmagerung und starben einige Monate nach Vornahme der Impfung, ohne irgend eine pathologische Veränderung an den Organen zu zeigen. Andere Thiere blieben am Leben, wurden im 5., 8. und 10. Monate getödtet und liessen bei der Section ebenfalls Nichts erkennen. Ganz gleich waren die Resultate der Impfungen an Meerschweinchen und Kaninchen. Niemals habe ich bei diesen Thieren den Tod durch eine von den Blastomyceten hervorgerufene und verbreitete Infection eintreten sehen. Einige Male habe ich auf den Gelatine- und Agarplatten, welche mit den Emulsionen der Geschwülste in den Nährflüssigkeiten geimpft worden waren, die Entwickelung von Blastomyceten beobachtet, welche, da sie nicht von Colonieen anderer Mikroorganismen begleitet und in leidlich grosser Anzahl vorhanden waren, mit aller Wahrscheinlichkeit vermuthen liessen, dass sie wirklich von den Geschwülsten und nicht von einer möglichen Verunreinigung herstammten. Diese Culturen habe ich nun wiederholt Hunden in verschiedener Weise eingeimpft, aber niemals damit bei ihnen eine Geschwulst hervorgebracht, und bei Meerschweinchen und Kaninchen habe ich niemals eine diffuse Infection beobachtet. Mitunter bildete sich in dem Unterhautbindegewebe



der Hunde ein haselnussgrosser Knoten, welcher aber einige Monate nach der Impfung verschwand, und zwar vollkommen. Bei den Meerschweinchen, und ganz besonders bei den Kaninchen, bildete sich an der Impfstelle im Unterhautbindegewebe ein weiches Knötchen, welches bei der Oeffnung eine dem Eiter ähnliche Substanz aufwies. Unter dem Mikroskope betrachtet zeigte diese Substanz Riesenzellen, Leucocyten, körnigen Detritus, mehr oder minder grosse Kalkkörnchen, also ganz genau dieselbe pathologische Veränderung, wie ich sie beobachtete, wenn ich aus der Luft oder aus dem Auswurfe von lungenschwindsüchtigen Individuen isolirte Blastomyceten einimpfte.

Aus diesem beständig negativen Resultate ergiebt sich, wie falsch der Standpunkt jener Forscher ist, welche die ansteckende Natur der menschlichen Geschwülste dadurch zu beweisen suchten, dass sie dieselben um jeden Preis an Thieren hervorzubringen versuchten, welche wie der Mensch von bösartigen Geschwülsten befallen werden können. Wenn wir einen Blastomyceten aus einem Krebse oder einem Sarcome des Menschen isoliren, so können wir vor allen Dingen nicht absolut sicher sein, dass dabei nicht eine Verunreinigung stattfindet, weil wir nicht in der Abwesenheit von Luft arbeiten können, und auch wenn wir die Sicherheit hätten, wirklich von der Geschwulst den Blastomyceten isolirt zu haben, so können wir absolut nicht behaupten, dass dieser Blastomycet, welcher sich an ein lange dauerndes Leben im Menschen angepasst hat, nun auch, in den Hoden oder die Milchdrüsen eines Hundes übertragen, dort eine Geschwulst hervorrufen wird, welche nach ihrem klinischen Verlaufe und ihrem anatomischen Baue der Geschwulst des Menschen gleich ist. Wenn eines von derartigen Experimenten fehlschlägt, so sind wir durchaus nicht zu der Behauptung berechtigt, dass die bösartigen Geschwülste nicht infectiver Natur seien; denn wollten wir dasselbe Kriterium bei der Beurtheilung der ansteckenden Krankheiten im Allgemeinen anwenden, so müssten wir sagen, dass viele ansteckende Processe keine solche sind, weil sie bisher nicht bei den Thieren haben hervorgebracht werden können. Nur in dem Falle, dass man beim Menschen bösartige Geschwülste mit sehr rapidem Verlaufe und reichlichem Parasitenbefunde beobachtet, wird man mit absoluter Sicherheit eine reine Cultur der Parasiten erhalten und mit dieser eine Geschwulst bei Thieren hervorbringen können, wie es in den Fällen von Corselli und Frisco (Sarcom der Mesenterialdrüsen), von Curtis und Brazzola eingetroffen ist. In diesen Fällen hatten die Parasiten noch nicht jene Anpassung an die biochemischen Bedingungen der Gewebe erfahren, um sie unfähig zu machen, sich nach der Uebertragung in künstliche Nährsubstrate oder in die Gewebe von Individuen anderer Thierarten zu entwickeln.

Wir müssen hier aber auch noch etwas Anderes in Erwägung ziehen.

Angenommen, dass wir die Sicherheit gewonnen haben, aus einem menschlichen Krebse einen Blastomyceten isolirt zu haben, so dürfen wir nicht lediglich deshalb die ätiologische Wichtigkeit dieses Parasiten in Abrede stellen, weil er nach Ueberimpfung in etwa 10 Hunde nicht die gleiche pathologische Bethätigung gezeigt hat. Man muss vor allen Dingen die Impfung an sehr vielen Hunden vornehmen und dann suchen, den Parasiten an das Leben in den Geweben der Hunde anzupassen, indem man ihn durch eine genügend lange Reihe hindurch von Hund auf Hund überträgt. Impft man ihn in die Bauchhöhle ein, so wird nach einiger Zeit, wenn man das Thier opfert, es möglich sein, ihn aus den mesenterialen Lymphdrüsen zu isoliren. Auf diese Weise kann man den Parasiten durch eine lange Reihe von Hunden hindurchgehen lassen und nach einiger Zeit sehen, ob er nach Einimpfung in die Brustdrüsen, die Hoden oder in andere Organe fähig geworden ist, eine richtige Geschwulst hervorzubringen. Dieser experimentelle Weg ist freilich sehr lang, aber man muss ihn einschlagen, wenn man zum Ausgangspunkt eine bösartige Geschwulst des Menschen nimmt. Ich habe diesen Weg nicht beschritten, weil ich einen Blastomyceten, den Saccharomyces neoformans, besass, welcher ein sehr bedeutendes pathogenes Vermögen für Meerschweinchen und Kaninchen gezeigt hatte. Ich zog es vielmehr vor, mit diesem zu arbeiten fortzufahren, als mit solchen, die aus bösartigen Geschwülsten des Menschen isolirt worden waren.

Nachdem also auf experimentellem Wege festgestellt worden war, dass der directe Weg nicht zu irgend einem positiven Resultate führte, so war es, wollte man den indirecten Weg beschreiten, vor allen Dingen nothwendig, zu beweisen, dass man durch Einimpfung reiner Culturen des Saccharomyces neoformans in Thieren, welche bösartige Geschwüre zu bekommen im Stande waren, nun auch wirklich jene Gebilde erzeugte, welche in den bösartigen Geschwülsten des Menschen gefunden worden sind, von Russell als Fuchsinkörperchen beschrieben und von ihm als Blastomyceten, von anderen Forschern als Coccidien gedeutet wurden. Durch Einimpfung reiner Culturen des Saccharomyces neoformans in Hunde und Katzen konnte ich mich überzeugen, dass die Blastomyceten, wenn die Infection lange Zeit in Anspruch nimmt, die typischen Formen der Fuchsinkörperchen und der Coccidien zeigen, wie sie von den verschiedenen Autoren in den bösartigen Geschwülsten des Menschen beschrieben wurden. Diese Parasitenformen, welche ich neuerdings in einer Abhandlung[1] beschrieben habe, besitzen eine derartige Struktur, eine der-

[1] Sanfelice, Ueber die experimentelle Erzeugung der Russell'schen Fuchsinkörperchen. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1898. Bd. XXIII.



artige Anordnung und derartige Beziehungen zu den Elementen des neugebildeten Gewebes, dass es absolut unmöglich ist, sie mit Gewebselementen, welche in Degeneration begriffen sind, zu verwechseln. Es werden also alle die Einwürfe, welche von den Widersachern der Parasitentheorie der bösartigen Geschwülste gemacht wurden und nach welchen diese Formen auf degenerirte Zellenelemente zurückzuführen seien, hinfällig. Bisher haben diese Widersacher noch keinen einzigen experimentellen Beweis dafür erbracht, dass die zelligen Elemente, wenn sie degeneriren, solche Gestalten annehmen, wie sie von den Forschern als Fuchsinkörperchen und als Coccidien beschrieben wurden. Sie stützen ihre Beobachtungen auf morphologische Daten, auf besondere Färbemethoden oder auf mikrochemische Reactionen, welche, wie Jedermann weiss, keine beachtenswerthen Resultate liefern können.

Nachdem so auf experimentellem Wege der morphologische Theil, auf welchen ich in der Folge noch einmal zurückkommen werde, erledigt war, war es noch nöthig, die Beweise für den anderen, noch interessanteren Theil zu bringen, nämlich, dass die Blastomyceten, wenn sie in reiner Cultur den für bösartige Geschwülste empfänglichen Thieren eingeimpft werden, im Stande sind, Neoplasien hervorzurufen, welche nach ihrem Verlaufe und ihrer Struktur vollkommen identisch mit jenen sind, welche man bei dem Menschen beobachtet. In dieser Arbeit will ich nun die Resultate der Impfungen von Hunden, Katzen und Schafen mit dem Saccharomyces neoformans bringen und zum Schlusse einen neuen Blastomyceten beschreiben, welcher Granulome hervorbringt und deshalb ein gewisses Interesse besitzt, weil er bislang nur für eine einzige Säugethierart sich als pathogen erwiesen hat, nämlich für das Schwein. Der Grund, welcher mich veranlasst hat, die Resultate der Impfungen mit diesen anderen pathogenen Blastomyceten mitzutheilen, war der, weil gerade sie deutlich die Unterschiede erkennen lassen, welche zwischen den pathologischen Veränderungen, die durch granulomerzeugende Blastomyceten hervorgebracht werden, und denjenigen, welche von wahre Geschwülste erzeugenden Blastomyceten bewirkt werden, bestehen.

II.

Die pathogene Wirkung der Saccharomyces neoformans auf Hunde.

Das positive Resultat, welches ich gleich von Anfang an mit den ersten Impfungen von Hunden mit reinen Culturen von Saccharomyces neoformans erhalten hatte, ermuthigte mich, die Versuche mit diesen



Thieren fortzusetzen. Bis zu Ende des Jahres 1895 hatte ich 40 Hunde geimpft und diese Zahl ist von Anfang des Jahres 1896 bis jetzt auf 59 gestiegen. Es wurden verschiedene Arten der Impfung versucht.. Einige Hunde wurden in das Unterhautbindegewebe, andere in die Hoden, die Brustdrüsen, die Milz, die Leber, die Lungen, die Jugularis, die Leibeshöhle geimpft. Diejenigen Hunde, welche in Folge der Impfung keine pathologische Erscheinung aufwiesen, die auf die Existenz eines neoplastischen Processes hindeutete, wurden nach drei, vier und fünf Monaten getödtet. Während es mir fast niemals gelang, aus Hunden, welche in die Milz, die Leber, die Lungen, die Brustdrüsen, die Hoden und in das Unterhautbindegewebe geimpft worden waren, die Parasiten zu isoliren, so gelang mir dies fast beständig aus den Lymphdrüsen des Unterleibes derjenigen Hunde, welche in die Bauchhöhle geimpft worden waren. Indem ich auf diese Weise die isolirten Culturen von dem Saccharomyces neoformans von Hund auf Hund übertrug, konnte ich diesen Parasiten sich an das Leben in den Geweben der Hunde anpassen lassen, und dies gelang soweit, dass, während die ersten in die Venen vorgenommenen Impfungen kein Resultat ergeben hatten, die Impfungen, welche ich in diesem Jahre bewerkstelligte, ein positives Resultat ergaben. Die Thiere starben nämlich mit einem anatomisch-pathologischen Befunde, den ich in der Folge besprechen werde.

Einige von den Hunden, welche in das Unterhautbindegewebe oder in die Brustdrüsen geimpft wurden, liessen nichts an der Impfstelle wahrnehmen, andere zeigten eine locale Reaction durch Anschwellung der Seite und der benachbarten Lymphdrüsen, eine Anschwellung, welche nach einer gewissen Zeit vollkommen verschwand. In der Milz, der Leber, den Lungen derjenigen Hunde, welche in diese Organe geimpft worden waren, wurde, wenn diese Thiere einige Zeit nach der Impfung geopfert wurden, nichts gefunden. Bei den Hunden, welche in die Bauchhöhle geimpft worden waren, wurde eine bedeutende Vergrösserung der Lymphdrüsen wahrgenommen, sonst weiter nichts. Um die Parasiten aus diesen Lymphdrüsen zu isoliren, machte ich weiter nichts, als dass ich Stücke aus ihrer Mitte nahm und in den flüssigen und festen Nährboden emulsionirte.

Ich habe verschiedene Mittel angewendet, um die Resistenz des Organismus der Hunde zu verringern und die Empfänglichkeit für die pathogene Wirkung des Saccharomyces neoformans zu vergrössern. Einigen Hunden habe ich wiederholt ziemlich bedeutende Mengen Blut entzogen und dann die Impfung an ihnen vorgenommen, aber immer mit negativem Resultate. Anderen Hunden brachte ich Verletzungen an den Brustdrüsen und an den Hoden bei und nahm dann die Impfung



vor; das Resultat war das Gleiche. Wieder anderen Hunden führte ich in das Unterhautbindegewebe sterilisirte Fremdkörper ein, welche einen beständigen Reiz verursachen konnten, z. B. eckige Glasstückchen. Wenn dann die Wunde der Haut vollkommen geheilt war, nahm ich die Impfung mit den Saccharomyces neoformans an derselben Stelle vor und unterliess nicht, dann und wann mit den Fingern die Fremdkörper hin und her zu schieben, um so kleine Verletzungen hervorzurufen. Aber auch in diesem Falle erhielt ich ein negatives Resultat. Einigen anderen Hunden brachte ich wiederholte Verletzungen der Haut und Unterhaut bei vermittelst physikalischer und chemischer Agentien, und dann ritzte oder impfte ich wiederholt etwas von dem Ueberzuge einer Cultur hinein, aber auch hier mit negativem Resultate. Endlich bei anderen Hunden nahm ich Transplantationen der Haut vor und impfte ihnen nach vollständiger Heilung die Parasiten ein, jedoch auch hier mit negativem Resultate. Obgleich jedes dieser Experimente mehrere Male wiederholt wurde, so kann das negative Ergebnis doch nicht absolut ausschliessen, dass irgend eine dieser bei den Hunden künstlich erzeugten Bedingungen auf die Entwickelung des Parasiten von Einfluss gewesen sei. Um einen solchen Verdacht absolut auszuschliessen, würden sehr zahlreiche Versuche nöthig sein. So viel über die negativen Resultate.

Das erste positive Resultat beobachtete ich bei einer Hündin, und die dort hervorgerufene pathologische Veränderung habe ich bereits in meiner dritten Abhandlung beschrieben.[1] Bei diesem ersten Falle handelte es sich, nach meiner Angabe, um einen neoplastischen Process, ich sprach mich aber damals nicht über die Bezeichnung der Geschwulst aus, da man bei ihr weder von der typischen Struktur der Epithelialgeschwülste, noch von der typischen Struktur der Bindegewebsgeschwülste reden konnte. Heute indessen, nachdem ich viele andere Impfungen an Hunden vorgenommen habe, und nachdem ich die pathogene Wirkung, welche der Saccharomyces neoformans auf sie ausübt, besser verstanden habe, kann ich die Entstehungsweise der bei der ersten Hündin beobachteten pathologischen Veränderung besser erklären, wie das auch weiter unten geschen wird.

Das zweite positive Resultat erhielt ich mit einer Hündin, welche ich mit einer reinen Cultur des Saccharomyces neoformans, der schon durch den Hundeorganismus durchgegangen war, in die hinteren Brustdrüsen impfte. Die Impfung wurde in der üblichen Weise vorgenommen. Mit einer Platinnadel wurde von der Cultur ein wenig von dem Ueber-

[1] A. a. O.



zuge genommen, in sterilisirtem Wasser emulsionirt, und dann wurde ein kleiner Theil dieser Emulsion mit einer gewöhnlichen Spritze eingeimpft. Die ersten Tage darauf zeigte das Thier eine leichte Reaction an der Impfstelle mit einer leichten Schwellung der Brustdrüsen. Nach Verlauf einiger Tage verschwanden die Symptome dieser Reaction ganz und die Brustdrüsen erschienen ganz normal. Nach einem Monate und etlichen Tagen begann ich zu beobachten, dass die Brustdrüsen ein wenig vergrössert waren und dass diese Vergrösserung allmählich zunahm. Mit der Entwickelung der Geschwulst ging, besonders gegen die letzten Monate hin, eine Abmagerung Hand in Hand. Das Thier starb nach 10 Monaten, und bei der Section wurden folgende pathologische Veränderungen constatirt. Die rechte hinterste Brustdrüse war halb so gross wie ein Ei und fühlte sich beim Betasten sehr consistent an; die Brustwarze war zurückgezogen und gespalten. Die linke hinterste Brustwarze war wenig kleiner als ein halbes Ei, ebenso consistent bei der Betastung und hatte ebenfalls die Brustwarze zurückgezogen. Die Haut, welche die Brustdrüsen bedeckte, war an einigen Stellen sehr festhaftend, so dass sie nicht in Form von Falten hochgezogen werden konnte. Im Durchschnitt hatte die rechte Brustdrüse das Aussehen der Fig. 7 auf Taf. IV, und die linke Brustseite wie Fig. 9 derselben Tafel. Die Inguinaldrüsen beider Seiten waren sehr vergrössert (Taf. IV, Figg. 5, 6, 8), die grössten erreichten den Umfang einer Mandel, die kleinsten die Grösse einer Haselnuss. Zahlreich waren die mitten im Fettzellengewebe der Weichen eingeschlossenen Drüsen. Im Unterleibe waren die Lymphdrüsen ein wenig vergrössert. Die Leber, Milz, Nieren zeigten keine Veränderung, ebenso wenig waren solche in den Höhlen des Thorax und des Kopfes anzutreffen. Die zahlreichen Versuche, Culturen in den verschiedenen flüssigen und festen Nährböden zu erhalten, hatten keinen Erfolg, weder von den hauptsächlichsten Geschwülsten, noch von den zahlreichen Lymphdrüsen. Die Schnitte durch die verschiedenen Theile der Geschwulst wurden entweder mit dem Gemische von Safranin und Malachitgrün oder mit Carmin und Gentianviolett gefärbt. Der centrale Theil der Geschwülste der Brustdrüsen zeigte einen histologischen Bau, wie er in der Fig. 3 auf Taf. VI wiedergegeben ist. Man beobachtet in diesen Schnitten eine Reihe von Epithelröhrchen, welche in verschiedener Richtung durchschnitten sind und von einem Bindegewebe mit ziemlich spärlichen Kernen zusammengehalten werden. Diese Epithelialröhrchen haben, was ihren Bau, ihre Anordnung anlangt, den typischen Bau wie in der normalen Brustdrüse. Der peripherische Theil der Geschwulst zeigte einen etwas anderen Bau als der centrale Theil. Auch die Schnitte durch den peripherischen Theil weisen eine Reihe von Epithelialröhrchen auf (Taf. VI,

Fig. 4), welche ebenfalls in verschiedenen Richtungen durchschnitten sind, aber einen anderen Anblick gewähren, als es die Epithelialröhrchen des centralen Theiles der Geschwulst thun. Während die Epithelialzellen, welche die Röhrchen des centralen Theiles der Geschwulst auskleiden, niedrig sind, ja fast ein Pflasterepithel darstellen, sind die Epithelialzellen, welche die Röhrchen des peripherischen Theiles der Geschwulst auskleiden, hoch, wahre Cylinderzellen. Ein anderer Unterschied besteht in dem reichlichen Vorhandensein von Bindegewebe in dem centralen Theile der Geschwulst, eines Bindegewebes, welches förmlich die Epithelialröhrchen zu erdrücken sucht, und in dem spärlichen Vorkommen dieses Bindegewebes im peripherischen Theile der Geschwulst. In dem peripherischen oder jungen Theile der Geschwulst herrscht das epitheliale Element vor, in dem alten Theile dagegen überwiegt das Bindegewebe.

Sehr interessant ist das Studium der Schnitte durch die inguinalen Lymphdrüsen. Einige von diesen (Taf. VII, Fig. 2) sind in ein neugebildetes Gewebe umgewandelt, ganz und gar ähnlich demjenigen, welches man in dem peripherischen Theile der Hauptgeschwülste beobachtet. Man sieht epitheliale Röhren mit denselben histologischen Charakteren, wie sie oben beschrieben wurden; sie sind quer, der Länge nach oder schräg durchschnitten, umgeben von runden Zellen mit intensiv gefärbtem Kerne, welche an die lymphoiden Elemente der Lymphdrüsen erinnern. Wir finden also in den Lymphdrüsen dieselben Epithelelemente wieder, welche die Hauptgeschwulst zusammensetzen, und man kann daher von richtigen Dürsenmetastasen reden. Andere Lymphdrüsen (Taf. VII, Fig. 3) sind noch gar nicht von der Neubildung ergriffen, sie zeigen mitten in dem eigentlichen, normalen Lymphdrüsengewebe Sprosse von epithelialen Röhrchen. Diese epithelialen Röhrchen, welche in den Lymphdrüsen angetroffen werden, sind richtige Transplantationen, welche durch die Lymphwege stattgefunden haben. Dass dies richtig ist, geht daraus hervor, dass ich in vielen Schnitten durch das Fettzellen-Bindegewebe, welches die Hauptgeschwülste umgab, das Hinüberwandern der epithelialen Elemente verfolgen konnte (Taf. VII, Fig. 1). Aus der hier gegebenen Beschreibung kann man, so scheint es mir, die Diagnose auf Adenocarcinom der Brustdrüse stellen, eine Diagnose, welche mir von vielen Collegen, denen ich meine Präparate und anatomischen Stücke vorlegte, bestätigt wurde. Ich will hoffen, dass Busse in seiner nächsten Arbeit diese bei der Hündin beobachtete Geschwulst nicht wieder auf das Vorkommen von Helminthen oder auf einen chronischen Entzündungsprocess wird zurückführen wollen, wie er mit grosser Prätension die pathologischen Veränderungen, welche ich bei der ersten Hündin beobachtete und in meiner dritten Abhandlung beschrieben habe, erklären zu dürfen geglaubt hat.



ohne meine Präparate gesehen zu haben. So viel Schnitte ich auch angefertigt habe, so ist es mir doch nicht gelungen, in dem alten Theile der Geschwulst parasitäre Gebilde zu erkennen. Einige wenige Elemente von Blastomyceten habe ich in dem peripherischen Theile der Geschwulst und in den Lymphdrüsen, welche Metastasen aufwiesen, gefunden. Diese Blastomyceten, einige endocellulär, andere frei, zeigten sich in der Gestalt intensiv gefärbter Kugeln, die einen mit blassem Hofe und intensiv gefärbtem centralen Theile, die anderen intensiv gefärbt, ohne Färbungsunterschied zwischen einem centralen und einem peripherischen Theile.

Wie soll man es sich nun erklären, dass bei dem Vorhandensein von Parasitenformen die zahlreichen Culturen, welche in verschiedenen, für die Entwickelung des Saccharomyces neoformans äusserst günstigen Nährböden angesetzt wurden, kein positives Resultat ergeben haben? Ich werde weiter unten auseinandersetzen, wie ich mich durch eine Reihe von Versuchen mit Katzen davon überzeugen konnte, dass der Saccharomyces neoformans, wenn er lange Zeit sich in den Geweben aufhält und die typische Form der Russel'schen Körperchen angenommen hat, nicht mehr cultivirbar ist, wenn er auf künstliche Nährböden übertragen wird. In der Gestalt des Russell'schen Körperchens pflanzt sich der Saccharomyces neoformans lediglich noch innerhalb des Organismus fort. Die tiefere Ursache dieser Erscheinung entzieht sich unserer Kenntniss und kann mit einem Worte erklärt werden, welches viel sagt, und welches nichts sagt, nämlich mit der Veränderung der bio-chemischen Bedingungen, in welche der Parasit versetzt wurde. Wenn der Saccharomyces neoformans künstlich cultivirbar sein soll, so muss er sich innerhalb des Organismus in jener Gestalt zeigen, wie ich ihn in den früheren Arbeiten im Organismus des Meerschweinchens, des Kaninchens u. s. w. beschrieben habe, in einer Gestalt also, welche bei Infectionen mit rapidem Verlaufe, selten bei Infectionen mit chronischem Verlaufe zur Beobachtung gelangt. Wenn man aus einer Geschwulst des Menschen oder der Thiere einen Blastomyceten isoliert, welcher wirklich aus der Masse der Geschwulst stammt, so besagt dies, dass neben den Formen, welche im Organismus als Russell'sche Körperchen erscheinen, auch Formen vorkommen, welche diese Veränderung noch nicht erlitten haben und daher noch cultivirbar sind.

Den dritten positiven Fall bei einem Hunde, welcher mit einer reinen Cultur des Saccharomyces neoformans in die beiden Hoden geimpft wurde, erhielt ich am 10. November 1897. Die Cultur, welche zur Impfung verwendet wurde, gehörte, wie bei dem anderen Thiere, zu derselben Reihe, welche schon ihren Weg durch eine grössere Zahl von Individuen gemacht hatte. Wie bei der Hündin, so beobachtete man



auch hier in den ersten Tagen, welche auf die Impfung folgten, eine leichte Schwellung der Hoden, die indessen gegen den 15. Tag hin verschwand. Ungefähr $1^1/_2$ Monate nach Vornahme der Impfung wurde ich gewahr, dass die Hoden vergrössert waren, und bei der Betastung zeigten sie auch eine erhöhte Consistenz. Die Schwellung der Hoden nahm langsam zu, und gegen Ende Februar konnte man deutlich längs der Ruthe haselnussgrosse Knötchen fühlen. Gegen Anfang April hatte die Geschwulst das Aussehen wie Fig. 1 auf Taf. IV. Beim Betasten merkte man an der Stelle der beiden Hoden eine einzige, harte, knotige Masse. Ein wenig weiter höher, zur linken Seite, fühlte man ein haselnussgrosses Knötchen, welches sich leicht verschieben liess, und ein wenig weiter oben rechts eine andere neoplastische, knotige Masse. Suchte man den Eingang in das Präputium zu öffnen, so kam eine andere neoplastische Masse von conischer Form zum Vorschein, welche mit der Basis nach unten und mit der Spitze nach oben gerichtet war und, wie wir später sehen werden, die Glans verdeckte und wegen ihrer Gestalt leicht mit dieser verwechselt werden konnte. In demselben Monat April wurde das Thier in Rom von Chirurgen in Augenschein genommen, so von Dr. Marino-Zuco, welcher sich dahin äusserte, dass es sich um eine Geschwulst cancröser Natur handele. Drückte man den Penis, so kam aus der Präputialöffnung tropfenweise eine Flüssigkeit von eitrigem Aussehen, welche bei der mikroskopischen Untersuchung von frischen und trockenen, mit einem Gemische von Safranin und Malachitgrün oder Jodgrün (welches man mit grossem Vortheile an Stelle des Malachitgrüns anwenden kann) gefärbten Präparaten Zellen mit grossem Kerne und gut begrenztem Zellleibe, Eiterkörperchen und rothe Blutkörperchen erkennen liess. Bei einigen der grossen Zellen war der Kern in Theilung begriffen. Von zwanzig Präparaten zeigte mir je eines in dem Körper dieser Zellen die deutlichsten Parasiten mit dem typischen Aussehen der Russell'schen Körperchen. Wenn man sich die Mühe nahm, die Präputialöffnung mit sterilisirtem Wasser zu reinigen, so wurden in der Flüssigkeit, welche aus dieser Oeffnung herauskam, wenn man die ersten Tropfen beseitigte, nur sehr wenige Schizomyceten angetroffen. Keine von den Culturen, welche ich mit dieser Flüssigkeit herzustellen versuchte, hat mir je ein positives Resultat ergeben. Auch diese Thatsache bestätigt, dass der Saccharomyces neoformans nicht cultivirbar ist, wenn er in der Gestalt der Russell'schen Körperchen auftritt.

Am 26. April starb das Thier unerwarteter Weise. Von convulsiven Anfällen ergriffen, fing es an, sich um sich selbst zu drehen und fiel plötzlich todt nieder.

Die Section wurde unmittelbar nach dem Tode zusammen mit meinem

Collegen, dem pathologischen Anatomen Hrn. Prof. Carbone, vorgenommen, welcher das Thier auch im Leben beobachtet hatte. Nach Wegnahme der Haut, welche die Geschwulst bedeckte (Taf. IV, Figg. 2, 3, 4), sieht man, wie die Stelle, an welcher die Hoden lagen, von einer gelblich-weissen Masse neugebildeten, compacten, homogenen Gewebes eingenommen wird, in welcher sich die Hoden und das Parenchymgewebe derselben nicht mehr unterscheiden lassen. Um den Penisknochen herum gewahrt man zahlreiche metastatische Knötchen von demselben Aussehen wie das der Hauptgeschwulst. Einige davon sind so gross als eine Haselnuss, andere nur von Erbsengrösse. Um die Glans herum liegt eine conische Masse neugebildeten Gewebes, welches ebenso aussieht als die Hauptgeschwulst, zum Theil die äusserste Spitze der Glans umfasst, im Leben aus der Präputialöffnung hervorragte, wenn man diese öffnete, und die Glans vortäuschte. In Fig. 3 erkennt man ganz deutlich die Lage dieser neugebildeten Masse in Bezug auf den Penisknochen und die Corpora cavernosa. In der Fig. 4 ist der Penisknochen mit den Corpora cavernosa nach links verschoben, um die ganze Geschwulst deutlich sehen zu lassen.

Es hat also die Geschwulst von den Hoden ihren Ausgang genommen und hat sich zwischen der Haut und dem Penis weiter entwickelt, zahlreiche metastatische Knötchen liefernd. Die Flüssigkeit von eitrigem Aussehen, welche aus der Präputialöffnung herauskam, kam also von dem neugebildeten Gewebe selbst und wurde erzeugt durch die beständige Reizung, welche die Geschwulst durch die Reibung mit dem Penis erfuhr.

Die inguinalen Lymphdrüsen waren wenig vergrössert und erwiesen sich beim Schnitte normal. Auch die Lymphdrüsen des Unterleibes waren wenig vergrössert und von normalem Baue. Die Milz zeigte keine Alteration. In den Nieren und der Leber hatte sich Blut angesammelt. Die Schleimhaut des Magens war sehr geröthet, der Darm normal. An den Lungen, am Herzen und am Gehirn war nichts Auffälliges zu beobachten. Da keine Verletzung gefunden wurde, welche den plötzlichen Tod hätte erklären können, ist mir der Verdacht gekommen, dass das Thier vielleicht irgend welche aus dem Laboratorium fortgeworfene giftige Substanz, die es im Garten, seinem Aufenthaltsorte, gefunden hat, gefressen hat und in Folge davon an Vergiftung gestorben ist.

Die Culturen, welche von den Emulsionen der kleinen und grossen Knötchen angesetzt wurden, haben keine Colonieen von Saccharomyces neoformans sich entwickeln lassen. Auch die von der Milz, der Leber, den Nieren und dem Herzblute angesetzten Culturen sind vollkommen steril geblieben.

Mit den Emulsionen der Knötchen in sterilisirtem Wasser wurden vier Hunde geimpft, nämlich drei Männchen in die Jugularis und den



rechten Hoden, ein Weibchen in die Ingularis und die hinteren Brustdrüsen. Auch mit der eitrig aussehenden Flüssigkeit, welche aus der Präputialöffnung herauskam, wurden mehrere Hunde in die Hoden und in die Brustdrüsen geimpft, und desgleichen wurden mit den Emulsionen der Knötchen in sterilisiertem Wasser mehrere Meerschweinchen und Kaninchen geimpft. Ueber die Resultate aller dieser Impfungen will ich berichten, wenn ich den histologischen Bau der Geschwulst beschrieben habe.

In den Schnitten durch die Hauptgeschwulst erblickt man Zellenelemente, die sehr ähnlich denjenigen sind, welche man in den Spermakanälchen der jungen Hundehoden antrifft. Sie liegen ganz enge aneinander und bilden so Schnüre, welche in einigen Schnitten (Taf. VI, Fig. 1) längs, in anderen quer durchschnitten sind. Diese Schnüre von Zellenelementen sind von einander durch ein sehr spärliches Bindegewebe getrennt. Einige Zellkerne befinden sich durch indirecte Theilung in Vermehrung begriffen. Ganz die gleiche Struktur beobachtet man in allen metastatischen Knötchen, grossen sowohl wie kleinen, und ebenso in der über der Glans gelegenen neugebildeten Masse, nur mit einem einzigen Unterschiede. Während nämlich in der Hauptgeschwulst die Zellenelemente eng aneinander gelagert sind, so dass die einzelnen Zellgrenzen nicht genau unterschieden werden können, so findet man, dass zwar die Zellenelemente des peripherischen Theiles der metastatischen Knötchen dieselbe Anordnung haben als wie in der Hauptgeschwulst, indessen diejenigen in dem centralen Theile sehr deutlich die tubuläre Anordnung erkennen lassen (Taf. VI, Fig. 2). Diese Röhrchen sind in verschiedener Richtung durchschnitten, die einen quer, die anderen der Länge nach, und wieder andere schief. Sie zeigen einen Epithelbelag und mitunter im Lumen des Röhrchens einen Haufen Zellen, welche sich von der Wand abgelöst haben. Diese epithelialen Elemente der metastatischen Knötchen sowohl, wie der Hauptgeschwulst erinnern durch ihre Kernstructur, ihre Begrenzung des Zellkörpers, ihre Anordnung sehr an die epithelialen Elemente eines jungen Hodens. Trotz der vielen Schnitte, welche ich angefertigt habe, habe ich doch niemals in der ganzen Masse der Geschwulst Degenerationsstadien angetroffen. Die Structur der Hauptgeschwulst und die Wiederholung dieser Structur in allen metastatischen Knötchen berechtigt uns, die Hauptgeschwulst als ein Adenocarcinom anzusehen, eine Diagnose, welche auch von meinem Collegen, den pathologischen Anatom Prof. Carbone, bestätigt wurde.

Was nun die Parasiten anlangt, so habe ich in dieser zweiten Geschwulst eine grössere Anzahl davon angetroffen, als in der Geschwulst der Hündin in dem oben beschriebenen Falle. Es wird dadurch das bestätigt,



was ich schon für andere Thiere nachgewiesen hatte, nämlich, dass Hand in Hand mit dem längeren Aufenthalt in den Geweben die Parasiten an Anzahl abnehmen. Bezüglich der Gestalt haben alle Parasiten das typische Aussehen der Russell'schen Körperchen und es liegen die einen, und zwar die grössere Anzahl, frei in verschieden grosser Zahl und Gruppen vereinigt (Taf. VI, Fig. 1, Taf. VII, Fig. 4), die anderen innerhalb von Zellen. Da ich viele Schnitte durch die zweite Geschwulst gemacht habe, kann ich in Bezug auf die Häufigkeit der Parasiten sagen, dass sie sicher in jedem zehnten Schnitte isolirt oder in Gruppen angeordnet zu finden sind. Die Gestalt, in welcher die Parasiten in dieser zweiten Geschwulst vorkommen, erklärt uns, warum in den Culturen keine Entwickelung der Saccharomyces neoformans stattgefunden hat.

In den inguinalen Lymphdrüsen war keine Veränderung zu bemerken, wenn man davon absieht, dass die Zellenelemente, welche die Follikelstränge zusammensetzen, sich in wahrnehmbarer Weise vermehrt haben. In den Schnitten der verschiedenen übrigen Organe habe ich keine Alteration bemerkt. Weder in den Schnitten durch die inguinalen Lymphdrüsen, noch n denen durch die Lymphdrüsen des Unterleibes habe ich das Vorkommen von Parasiten bemerkt.

Von den vier Hunden, welche mit Emulsionen der metastatischen Knötchen geimpft wurden, zeigt nur ein Männchen, das in die Jugularis und den rechten Hoden geimpft worden war, heute, nach Verlauf von mehr als zwei Monaten, eine bedeutende Vergrösserung des rechten Hodens, so dass es scheint, als ob die Parasiten darin sich entwickelt haben. Natürlich kann ich das nur unter aller Reserve sagen, denn, bevor der Tod des Thieres eingetreten ist, kann man nichts Sicheres aussagen und sich schwer über die Natur der Geschwulst aussprechen. Auch in zwei von den vielen Hunden, welche mit der eiterig aussehenden, aus der Präputialöffnung ausfliessenden Flüssigkeit in die Hoden geimpft worden sind, scheinen die Parasiten gediehen zu sein. Aber auch hier mache ich diese Angabe unter aller Reserve, da man, um sicher zu sein, den Tod dieser Thiere abwarten muss. Wenn diese Hunde, welche mir jetzt als Versuchsthiere dienen, wichtige Geschwülste zeigen werden, so soll über sie in einer anderen Arbeit berichtet werden.

Ich hoffe, in Zukunft positive Resultate in grösserer Anzahl als bisher zu erhalten, indem ich einestheils darnach trachten werde, die Reihe der Ueberimpfungen der Geschwülste von Hund auf Hund nicht zu verlieren, anderentheils versuchen werde, die Virulenz des Saccharomyces neoformans, indem ich ihn durch eine lange Reihe von Hunden passiren lasse, auf ihr Maximum zu steigern. Wenn wir etwas Positives über die Prädisposition der verschiedenen Hunderassen für bösartige Geschwülste

wüssten, so könnten wir diejenigen, welche am meisten prädisponirt sind, aussuchen, leider aber wissen wir in dieser Beziehung gar nichts, aber trotzdem müssen wir mit aller Energie die Versuche fortsetzen. Die Hunde, mit denen ich bisher experimentirt habe, waren zum grössten Theile Bastarde, nur sehr wenige waren Rassehunde. Viele von diesen Hunden können negative Resultate liefern, weil sie von Natur immun sind, oder weil sie, wenn man auch für die Hunde eine erbliche Prädisposition zulässt, von Eltern abstammen, welche niemals von bösartigen Geschwülsten befallen worden sind. Aus diesen ganz principiellen Gründen darf man sich nicht über die geringe Anzahl der positiven Resultate wundern.

Ich will jetzt über die Resultate der Impfungen mit dem Saccharomyces neoformans in die Venen bei Hunden berichten.

Von vier Hunden, welche in die Vena jugularis geimpft wurden, starb der erste nach $1^1/_2$ Monat, der zweite nach 1 Monat, der dritte nach 1 Monat 5 Tagen, der vierte nach $1^1/_2$ Monat. Alle vier fingen nach 14 bis 20 Tagen nach der Impfung an, eine bedeutende Abmagerung zu zeigen, welche bis zu dem Tage des Todes beständig zunahm. Von Zeit zu Zeit wurde die Temperatur im Rectum gemessen und normal befunden.

Bei der Section ergaben alle vier Thiere denselben anatomisch-pathologischen Befund. Nachdem die Haut abgezogen war, zeigten sich die Lymphdrüschen der Weichen und Achselhöhlen wenig vergrössert. Im Unterleib erschien die Milz etwas grösser, die Lymphfollikel stark vergrössert und über die Oberfläche hervorragend. Die Lymphdrüsen des Mesenteriums waren stark vergrössert, ebenso die Lymphfollikel des Darmes. An der Oberfläche der Nieren sah man sehr zahlreiche, mehr oder weniger ausgedehnte Flecken von gelblich-weisser Farbe. Wurden die Nieren durch einen Längsschnitt gespalten, so zeigte auch die Corticalsubstanz zalreiche gelblich-weisse Flecken, welche mit denen an der Oberfläche correspondirten. Einige dieser Flecken der Corticalschicht drangen auch bis in die Medullarsubstanz ein. Die Leber war normal. An den Lungen war nichts zu bemerken. Das Gleiche gilt in makroskopischer Beziehung für das Gehirn, mit Ausnahme einer leichten Verdickung der Pia mater und der Choroidalplexusse. Bei dem zweiten und vierten Hunde sah man zahlreiche weissliche Knötchen in der Retina, zum Theil ähnlich denjenigen, welche ich bei einem Schafe beschreiben werde, das ebenfalls in die Jugularis geimpft worden war, und von dem man die Photographie in der Fig. 10 der Taf. V sieht. Wurden frische Präparate durch Zerzupfung der Lymphdrüsen, der Milz, der Nieren, der Pia mater hergestellt, so konnten einige wenige Parasiten beobachtet werden, und meist musste man zwei oder drei Präparate von demselben Organe anfertigen, um einige Parasiten zu finden. Diese zeigen dasselbe Aussehen



wie jene, welche im Organismus des Meerschweinchens, des Kaninchens und der weissen Ratte zu sehen sind, d. h. sie sind rund, verschieden gross, haben eine lichtbrechende Membran mit doppelter Contur und besitzen ein oder mehrere lichtbrechende Körnchen in ihrem Inneren. Die Dicke der lichtbrechenden Membram variirt in den verschiedenen Zellen, und nur bei einigen ist diese Membran von einer anderen hyalinen, deutlich unterscheidbaren, doppelt conturirten Membran umgeben. Von den Parasiten liegen die einen frei, die anderen in Zellen eingeschlossen, in dem letzteren Falle sind sie von einem hellen Hofe umgeben. Die Culturen, welche meist von den Nieren, der Milz und den Choroidealplexussen der in Folge der Venenimpfung mit Saccharomyces neoformans gestorbenen Hunde angesetzt wurden, fielen beständig positiv aus. Es ist dies ein anderer Beweis dafür, dass die Blastomyceten, wenn sie sich in der oben beschriebenen Gestalt vorfinden, stets cultivirbar sind.

Die Schnitte durch die Lymphdrüsen zeigten eine bedeutende Vergrösserung der Lymphfollikel und der Follikularstränge. In den Lymphräumen bemerkte man eine leichte Vermehrung der lymphoiden Elemente. Die sehr spärlich vorkommenden Parasiten finden sich lediglich in den Follicularsträngen und liegen entweder frei oder innerhalb von Zellen. Alle weisen jene Skructureigenthümlichkeiten auf, wie sie bereits für die in den Geweben der Meerschweinchen, Kaninchen u. s. w. vorkommenden Blastomyceten beschrieben worden sind. Die Lymphfollikel des Darmes waren ein wenig vergrössert, und auch in ihnen konnte man nach Anfertigung verschiedener Schnitte die Blastomyceten antreffen. In der Milz waren die Lymphfollikel und die Follicularstränge stark vergrössert, und nur in den letzteren waren Parasiten zu finden. Das Mark der langen Knochen war sehr reich an lymphoiden Elementen und enthielt auch einige wenige Parasiten.

Die Nieren wiesen bedeutendere Veränderungen auf. Die gelblichweissen Flecken, welche zahlreich in der Rindensubstanz vorkamen und an der Oberfläche des Schnittes zu sehen waren, sind aus Zellen zusammen gesetzt, deren Kern ziemlich gross und deren Leib gut begrenzt ist. Betrachtet man diese Zellen von ihrer ebenen Seite, so erscheinen sie dicht nebeneinandergelagert. Es bilden diese Zellen Knötchen, welche nicht genau begrenzt sind, sondern nach der Peripherie zu, in die Zwischenräume zwischen den Tubuli contorti hinein, sich zu infiltriren suchen. Manchmal finden sich diese Zellen auch in der Medullarsubstanz zwischen den Tubuli recti. Die Tubuli contorti sind durch die Wucherung dieser interstitiellen Zellen zerstört, und zwischen den letzteren gelingt es leicht, an manchen Stellen die Epithelialzellen der in Auflösung begriffenen Nierenkanälchen zu erkennen. In den genannten Knötchen von neu-



gebildeten Elementen konnte ich niemals Riesenzellen, noch auch Erscheinungen einer Degeneration bemerken. Die Nierenkanälchen in der Nähe dieser Knötchen zeigen ein etwas alterirtes Epithel, während diejenigen, welche etwas weiter davon entfernt liegen, ein ganz normales Epithel besitzen. Die neugebildeten Knötchen kommen zahlreicher nach der Peripherie zu vor und liegen mit ihrer Basis gerade an der Nierenkapsel und mit ihrer Spitze nach dem Hilus der Niere zu gerichtet. Es gilt dies für die grösseren, daneben kommen aber auch noch weniger ausgedehnte hier und da zwischen den Tubuli contorti um die Kapsel der Glomeruli herum vor. Parasiten kommen nur in geringer Zahl vor; in manchen Knötchen sieht man sie verkalkt.

An der Leber habe ich keine Veränderung bemerkt. Die Schnitte durch die Lungen waren ganz normal. In der Gehirnrinde kamen Knötchen mit Zellen vor, welche mit denen bei den Nieren beschriebenen identisch sind, und welche einige wenige Parasiten einschliessen. Die Knötchen der Retina haben ihren Sitz in dem Stratum granulare und werden aus denselben Zellen gebildet, welche auch die Knötchen in der Niere und der Gehirnrinde zusammensetzen.

Dass der Infectionsprocess bei diesen, mit dem Parasiten in die Vene geimpften Hunden wirklich dem eingeimpften Saccharomyces neoformans zuzuschreiben ist, daran kann, so glaube ich, gar kein Zweifel obwalten. Wurde doch der zweite Hund mit einer aus der Niere des ersten Hundes gewonnenen Cultur in die Vena jugularis geimpft und starb wie der erste mit dem gleichen Befunde. Mit einer von dem zweiten Hunde gewonnenen Cultur wurde der dritte und vierte Hund geimpft, welche auch den ganz gleichen anatomisch-pathologischen Befund lieferten. Jetzt muss nun die Natur dieses Infectionsprocesses festgestellt werden, und zwar zuerst die Natur der Zellelemente, welche die Knötchen der Nieren, des Gehirnes und der Retina zusammensetzen.

Ohne Zweifel handelt es sich um Zellen mesodermatischen Ursprunges, um Bindegewebszellen, man kann daher nur entweder von einem Entzündungsprocesse oder von einem neoplastischen Processe sprechen. Ich glaube nicht, dass man von Granulomen reden kann, weil in den Knötchen die typische Structur dieser pathologischen Veränderungen fehlt. Es fehlen die Riesenzellen, es fehlen die epitheloiden Zellen, es fehlen die granulomatösen Infiltrationszonen. Sicher sind es keine Veränderungen, welche sich mit den tuberkulären Granulomen, ebensowenig mit dem Rotz-Granulom, oder mit dem aktinomykotischen Granulom vergleichen lassen. Bei diesen Granulomen findet eine regressive Phase statt, welche durch die Nekrobiose der centralen Elemente charakterisirt ist, eine Phase, welche in den bei den Hunden beobachteten Neubildungen vollkommen

fehlt. Mir scheint es, dass es sich hier mehr um Veränderungen neoplastischer als entzündlicher Natur handelt. Natürlich spreche ich dies mit einer gewissen Reserve aus, da ich noch weitere Untersuchungen anstellen müsste, um ganz sicher zu sein von dem, was ich sage. Thatsache ist, dass wir uns hier gegenüber von pathologischen Veränderungen befinden, welche von demselben Parasiten verursacht worden sind, der nach Einimpfung in die Brustdrüsen oder Hoden eine typische epitheliale Neubildung hervorgerufen hat, nach Einimpfung in die Venen aber eine Neubildung von Bindegewebselementen in verschiedenen Organen veranlasst hat. Nach meiner Ansicht haben die Veränderungen, welche bei den Hunden durch die Impfung mit Saccharomyces neoformans in die Vene hervorgerufen worden sind, viel Gemeinsames mit den pathologischen Veränderungen, welche Busse in seinem Falle beobachtet hat. Wer aufmerksam die Monographie von Busse liesst, wird nicht Mühe haben, sich der grossen Aehnlichkeit, welche zwischen den beiden Infectionsprocessen herrscht, bewusst zu werden. Busse befand sich einem neuen Falle, hervorgerufen von einem neuen Parasiten, einem Saccharomyceten, gegenüber, suchte ihn mit den allgemeinen anatomisch-pathologischen Kenntnissen zu erklären, und taufte diesen Fall mit dem Namen einer Form von Pyämie. Man vergesse aber nicht, dass die primäre pathologische Veränderung als eine Form von Sarcom diagnosticirt war, also als eine Veränderung neoplastischer Natur. Entweder hat Busse sich also zuerst oder zuletzt geirrt. Ich glaube, dass er zuletzt geirrt hat, indem er eine Form von diffuser Sarcomatose als eine Form von Pyämie angesehen hat.

Die Thatsache, dass ein und derselbe Parasit nach Einimpfung in die Venen von Hunden bindegewebige Neubildungen veranlasst hat, nach Einimpfung in die Brustdrüsen und in die Hoden epitheliale Neubildungen hervorgerufen hat, berechtigt uns zu der Annahme, dass es in der Natur nicht zwei verschiedene Gruppen von Parasiten giebt, von denen die eine bindegewebige, die andere epitheliale Neubildungen hervorruft, sondern dass dieselben Parasiten bald eine bindegewebige, bald eine epitheliale Neubildung veranlassen können, je nach den Zellenelementen, in welche sie zufällig gerathen sind. Die Neubildung ist weiter nichts als die Reaction von Seiten des Organismus gegen die Invasion der Parasiten. Gelangen diese letzteren zufällig mitten zwischen Bindegewebszellen, so antworten diese auf den Reiz durch Proliferation, gelangen die Parasiten mitten in epitheliale Elemente, so reagiren diese gegen den Reiz durch Wucherung und liefern eine epitheliale Neubildung. Diese Auffassung ergiebt sich logischer Weise aus den bisher gemachten Beobachtungen. Warten wir, ob sie von weiteren Untersuchungen wird bestätigt werden,

oder nicht. Wären die in die Vene mit dem Saccharomyces neoformans geimpften Hunde nicht nach 1 oder $1^1/_2$ Monat, sondern erst nach 8, 10 Monaten in Folge der Infection gestorben — und ich bin sicher, dass mir solche Fälle vorkommen werden — so dürften wir ohne Zweifel auf Grund der bisher beobachteten Thatsachen annehmen, dass wir viel weiter ausgedehnte pathologische Veränderungen des Bindegewebes würden angetroffen haben, und dass wir die Parasiten nicht nur nicht cultiviren gekonnt, sondern mit aller Wahrscheinlichkeit nicht einmal in den Geweben angetroffen haben würden. In diesem Falle wäre ich nun sicher, dass jedweder pathologische Anatom die Diagnose auf einen neoplastischen Process bindegewebiger Natur gestellt haben würde.

Nach dem, was ich hier auseinander gesetzt habe, fällt es leicht, den in meiner dritten Abhandlung beschriebenen Fall der ersten Hündin, welche mit dem Saccharomyces neoformans in die hinteren Brustdrüsen geimpft worden war, zu deuten. Es handelte sich in diesem Falle sowohl wie bei den in die Vene geimpften Hunden um dieselben bindegewebigen Neubildungen, welche ich bei einigen in das Abdomen mit demselben Blastomyceten geimpften Katzen angetroffen habe, über die ich weiter unten berichten werde. Es waren pathologische Veränderungen neoplastischer Natur, aber bindegewebiger Art ihrem Ursprunge nach, also mesodermatischer Herkunft. In dieser Beziehung ist der Name „metastatisch“ für die pathologischen Veränderungen der Nieren und der Milz nicht passend. Es handelt sich in diesen Fällen nicht um wahre Transplantationen zelliger Elemente der primären pathologischen Veränderung, sondern um eine Transplantation der Parasiten, um welche die an Ort und Stelle befindlichen bindegewebigen Elemente wuchern.

III.

Die pathogene Wirkung des Saccharomyces neoformans auf Katzen.

Die pathogene Wirkung des Saccharomyces neoformans ist an 24 Katzen erprobt worden. Von ihnen wurden 8 in das Unterhautbindegewebe, 13 in die Bauchhöhle und 3 in die Jugularvene geimpft.

Von den in das Unterhautbindegewebe geimpften Katzen zeigten einige an der Impfstelle ein Knötchen von der Grösse einer Haselnuss oder einer Mandel. Als dieses nach Verlauf einiger Monate geöffnet wurde, erwies sich der Inhalt als eine gelbliche, crêmeartige, eiterähnliche Masse, welche bei der Untersuchung unter dem Mikroskope viele Leukocyten, Riesenzellen, kalkigen Detritus und Parasiten mit dem gewöhnlichen Aus-



sehen oder in der kalkigen Degeneration begriffen erkennen liess. Andere Katzen zeigten keine pathologische Veränderung.

Von den Katzen, welche in die Bauchhöhle geimpft wurden, starben einige im Mittel von 6 Monaten, andere wurden verschieden lange Zeit nach der Impfung getödtet, um die von den Parasiten eingegangenen Structurveränderungen zu verfolgen. Die Katzen, welche von selbst starben, boten bei der Section folgenden anatomisch-pathologischen Befund dar. Nach der Abbalgung trat eine starke Vergrösserung der Achsel- und Weichendrüsen zu Tage. Im Unterleibe waren die mesenterialen Lymphdrüsen bedeutend vergrössert, desgleichen auch die Darmfollikel. Die Milz hatte ein grösseres Volumen, die Lymphfollikel waren gleichfalls stark vergrössert und ragten über die Oberfläche hervor. In den Nieren erblickte man in der Rindensubstanz viele Flecken, welche auch bis in die Medullarsubstanz eindrangen und dasselbe Aussehen hatten, wie die Flecken in den Nieren der in die Vene geimpften Hunde. Die Leber erschien normal. Auf der ganzen Oberfläche der Lunge befanden sich viele hervorragende Flecken von derselben Farbe, wie die bei der Niere beobachteten. Am Gehirne und den übrigen Organen wurde nichts Abnormes bemerkt. Bei der Untersuchung von frischen Präparaten der verschiedenen Organe, welche durch Zerzupfung eines Stückes der Gewebe mit Nadeln und Quetschung mit dem Deckglase hergestellt wurden, habe ich nur in den Lymphdrüsen, in der Milz und dem Marke der langen Knochen das Vorkommen von Parasiten feststellen können. In diesen Präparaten erschienen die Parasiten in der Gestalt hyaliner, meist zu Gruppen vereinigter Kugeln; keinen Parasiten konnte ich mit lichtbrechender Kapsel und einem hyalinen Hofe sehen. Die Culturen, welche in allen für die Entwickelung des Saccharomyces neoformans günstigeren Nährböden von den Lymphdrüsen, der Milz und dem Marke der langen Knochen angesetzt wurden, blieben sammt und sonders steril. Die Schnitte durch die Lymphdrüsen zeigten eine bedeutende Vergrösserung der Follicularstränge und der Follikel mit folgender Zusammenschnürung der Lymphlakunen (Taf. VIII, Fig. 1). Auch in der Milz beobachtete man Vergrösserung der Follikel und Lymphstränge. Das Mark der langen Knochen war reich an lymphoiden Elementen. In den Nieren hatten die Knötchen dasselbe Ansehen, als wie es bei den Hunden beschrieben wurde (Taf. VIII, Fig. 2), und die gleiche Structur besassen die Knötchen der Lunge. Parasiten traf ich weniger selten in den Lymphdrüsen der Milz und in dem Marke der langen Knochen, sehr selten dagegen in den anderen Organen. Es finden sich diese Blastomyceten in den Lymphsträngen der Lymphdrüsen und der Milz, zwischen den gewucherten lymphoiden Zellen des Knochenmarkes, in den Knötchen der Nieren und



der Lunge in der typischen Gestalt der Russell'schen Körperchen. Meist liegen sie in Gruppen von verschiedener Grösse oder auch innerhalb von Zellen. Ihre Structureigenthümlichkeiten habe ich schon in einer früheren Arbeit beschrieben.[1] Das Antreffen der Blastomyceten in der typischen Gestalt der Russell'schen Körperchen erklärt, warum die Culturen steril geblieben sind. Wenn die Blastomyceten erst diese Gestalt angenommen haben, so sind sie eben auf künstlichem Wege nicht mehr cultivirbar.

Um mich noch mehr dieser letzterwähnten Thatsache zu versichern, tödtete ich verschiedene Katzen verschieden lange Zeit nach der Impfung mit Saccharomyces neoformans in den Unterleib. Jedes Mal, wenn ich ein Thier tödtete, trug ich Sorge, Culturen von den Lymphdrüsen, der Milz und dem Knochenmarke anzusetzen, und gleichzeitig fixirte und härtete ich Stücke, um nachzusehen, in welcher Gestalt sich die Parasiten in den Geweben befanden. Durch diese Untersuchungsreihe konnte ich mich überzeugen, dass jedes Mal dann die Culturen positiv ausgefallen waren, wenn die Blastomyceten in den Geweben in der Gestalt derjenigen Parasiten vorhanden waren, welche ich bei den Meerschweinchen und Kaninchen beschrieben habe. Damit die Blastomyceten die typische Form der Russell'schen Körperchen annehmen, müssen sie sich einige Zeit im Organismus aufgehalten haben. Weitere Untersuchungen, mit denen ich schon beschäftigt bin, werden nachweisen, ob dieser Veränderung der Gestalt auch ein verschiedenes pathogenes Vermögen entspricht oder nicht, ob immer ein langer Aufenthalt zur Annahme dieser Gestalt im Organismus nöthig ist oder nicht, ob sie in dieser Gestalt beständig im Organismus gedeihen oder nicht. Alles Fragen, welche ich durch weitere Untersuchungen lösen zu können hoffe.

Von den in die Vena jugularis geimpften Katzen starb die erste nach $1^1/_2$ Monat, die zweite und dritte nach 2 Monaten. Alle drei zeigten mit dem Fortschreiten der Krankheit eine bedeutende Abmagerung, wie übrigens auch die in den Unterleib geimpften Katzen, hielten sich in den letzten Tagen schlecht auf den Füssen, beim Gehen schwankten und taumelten sie und fielen häufig auf eine Seite.

Bei der Section fanden sich bei diesen 3 Katzen an den Lymphdrüsen, der Milz, den Nieren und den Lungen dieselben pathologischen Veränderungen, wie sie oben beschrieben wurden, ausserdem aber solche in der Retina in Gestalt zahlreicher Knötchen, ferner eine Verdickung der Pia mater und eine Vergrösserung der Choroidealplexusse. An der Oberfläche der Nieren waren bald zahlreiche kleine Knötchen, bald sehr

[1] Sanfelice, Ueber die experimentelle Erzeugung der Russel'schen Fuchsinkörperchen. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1898. Bd. XXIII.



ausgedehnte Flecken zu sehen (Taf. V, Figg. 2 bis 4). Die Lungen besassen, besonders bei der einen Katze, grosse, hervorragende Knötchen (Taf. V, Figg. 3 bis 7, 8). Bei der Milz (Taf. VIII, Fig. 5) waren die Follikel sehr vergrössert und ragten über die Oberfläche hervor. Die von der Milz, den Nieren, den Lymphdrüsen angesetzten Culturen fielen beständig positiv aus.

In den Schnitten durch die Lymphdrüsen, die Milz, das Mark der langen Knochen und die Lungen sind dieselben pathologischen Veränderungen zu bemerken, wie schon bei den anderen Katzen beschrieben. In der Gehirnrinde kommen zahlreiche, mehr oder weniger ausgedehnte Knötchen vor, eben solche finden sich auch im Kleinhirn. Die Knötchen der Retina liegen in dem Stratum granulare.

Die Parasiten, welche eine Gestalt besitzen, wie sie schon in den Geweben der Meerschweinchen und Kaninchen beschrieben wurde, kommen reichlicher in den Nieren, dem Gehirn, dem Kleinhirn und den Lungen, weniger zahlreich in den Lymphdrüsen, der Milz, dem Knochenmark, der Retina vor. Die Verdickung der Pia mater und Choroidealplexusse wird verursacht durch eine grosse Anzahl von Zellenelementen, welche um die Parasiten herum gewuchert haben.

Es ergiebt sich also folgender Schluss: Der Saccharomyces neoformans hat nach Einimpfung in den Unterleib und die Venen bei Katzen eine diffuse Infection hervorgerufen, ähnlich jener, wie sie bei den in die Venen geimpften Hunden mit Neubildung bindegewebiger Natur in den Organen beobachtet wurde.

IV.

Die pathogene Wirkung des Saccharomyces neoformans auf Schafe.

Die pathogene Wirkung des Saccharomyces neoformans ist an 9 Schafen erprobt worden. Eins davon wurde in das Unterhautbindegewebe an der inneren Seite der Schenkel, zwei in die Bauchhöhle, eins in die Milchdrüsen und fünf in die Jugularvene geimpft.

Das in das Unterhautbindegewebe geimpfte Schaf zeigte an der Impfstelle ein haselnussgrosses Knötchen, welches nach 2 Monaten vollkommen verschwand. Die in die Leibeshöhle geimpften Schafe liessen nichts Bemerkenswerthes erkennen, desgleichen trat bei dem in die Milchdrüsen geimpften Schafe keine pathologische Veränderung ein. Da ich mit diesen Impfungen keine Resultate erzielt hatte, beschloss ich, bei den anderen Schafen die Impfung in die Venen vorzunehmen, womit ich glücklicher Weise positive Resultate erhielt. Drei von den in die Jugularvene ge-



impften Schafen starben $1^1/_2$ Monat nach der Impfung und 2 Schafe nach 2 Monaten.

Das eine der beiden zuletzt genannten Schafe liess 20 Tage nach der Impfung am linken Auge eine Trübung der Cornea und eine bedeutende Vergrösserung des Augenbulbus erkennen. 25 Tage nach der Impfung wurde auch die Cornea des anderen Auges trübe, und eine bedeutende Vergrösserung des Bulbus fing an sich bemerklich zu machen. Diese Erscheinungen an den Augen nahmen immer mehr zu, und in den letzten Tagen der Krankheit war obgleich man sich alle Mühe gab, das Thier reichlich zu nähren, eine sehr bedeutende Abmagerung zu constatiren. Das Thier konnte kaum gehen, taumelte und fiel oft in Folge von epilepsieähnlichen Zuckungen auf eine Seite.

Das andere Schaf, welches ebenfalls nach 2 Monaten starb, wurde nach ungefähr einem Monate vollkommen blind, ohne indessen eine Trübung der Cornea zu zeigen. An den Augen war nichts zu sehen, was die vollständige Erblindung hätte erklären können, aber beim Gehen schwankte das Thier ein wenig, es stiess leicht an Hindernissen an und fiel leicht. Wenige Tage vor dem Tode bekam es die gleichen Convulsionen, wie sie das andere Schaf gehabt hatte.

Die anderen 3 Schafe wiesen, so lange sie lebten, an den Augen keine Veränderungen auf. Wenige Tage vor dem Tode war ihr Gang taumelnd. Wie die anderen magerten sie bedeutend ab. Bei allen fünf Schafen war keine Temperaturerhöhung eingetreten.

Das erste der beiden 2 Monate nach der Impfung in die Vene gestorbenen Schafe wies bei der Section folgenden anatomisch-pathologischen Befund auf. Bedeutende Vergrösserung der Lymphdrüsen. Besonders war dies der Fall bei denen des Mesenteriums, welche auch eine unregelmässige Oberfläche hatten (Taf. V, Figg. 1 bis 9). Milz leicht geschwollen, mit Vergrösserung der Lymphfollikel. Die Nieren an der Oberfläche mit verschieden ausgedehnten gelblich-weissen Flecken, im Schnitt eben solche Flecken, welche denen in der Rindensubstanz entsprachen. Leber und Lungen ohne Veränderung. Hirnhäute bedeutend verdickt, in der rechten Hemisphäre des Gehirns ein grosser hämorrhagischer Fleck, ein eben solcher an der rechten Seite des Kleinhirns, Choroidealplexusse (Taf. V, Fig. 6) stark verdickt und an ihrer Oberfläche mit sehr zahlreichen Miliarknötchen. Iris an beiden Augen mit zahlreichen Verwachsungen (Taf. V, Fig. 11), in der Retina etwas hervorspringende Knötchen (Taf. IV, Fig. 19), Glaskörper getrübt.

Bei dem anderen Schafe fanden sich dieselben pathologischen Veränderungen an den Lymphdrüsen, in der Milz, in den Nieren; weniger als bei dem anderen Schafe ausgesprochene Veränderungen in den übrigen



Organen. Bei der Section der anderen 3 Schafe wurden fast identische Veränderungen an den Lymphdrüsen, der Milz und den Nieren gefunden. Es kamen noch Veränderungen an den Hirnhäuten und den Choroidealplexussen vor, keine jedoch an den Augen.

Stellte ich nach der üblichen Methode Untersuchungen der Gewebe im frischen Zustande an, so fand ich unter dem Mikroskope eingekapselte Parasiten zahlreicher in den Nieren, im Gehirne und in der Retina, weniger zahlreich in den übrigen Organen. Die Culturen, welche vornehmlich von den Nieren und den Choroidealplexussen angesetzt wurden fielen positiv aus. Ich conservire mir jetzt die Reihe der Culturen des durch die Schafe passirten Saccharomyces neoformans, wie ich mir in gleicher Weise jene, welche ihren Weg durch die Hunde und die Katzen gemacht haben, aufhebe. Ich thue dies zu einem doppelten Zwecke. Erstlich will ich sehen, ob derselbe Blastomycet bei seinem Wege durch eine zahlreiche Reihe von Thieren derselben Art dasselbe pathogene Vermögen bewahrt. Zweitens will ich sehen, ob der Parasit, nachdem er durch eine sehr zahlreiche Reihe von Thieren derselben Art seinen Weg gemacht hat, bei der Uebertragung auf Thiere einer anderen Art dieselben pathologischen Erscheinungen hervorruft oder nicht.

Die histologischen Veränderungen, welche in Schnitten durch die nach der üblichen Methode gefärbten Gewebe zu beobachten sind, ergeben sich als vollkommen identisch mit jenen, wie sie schon bei den mit demselben Blastomyceten in die Venen geimpften und in Folge davon gestorbenen Hunden und Katzen beschrieben worden sind. Auf Taf. VIII, Fig. 5, ist die Gestalt der neugebildeten Zellenelemente zu sehen, welche sich in allen Neubildungen finden. Auch bei den Schafen handelt es sich um Neubildungen bindegewebigen Ursprunges, ähnlich wie bei den Hunden und Katzen, welche in Folge der Impfung in die Vene starben. Auch die Parasiten (Taf. VIII, Fig. 5) zeigen dieselbe Gestalt, so dass ich glaube, davon befreit zu sein, eine Beschreibung geben zu müssen.

Ziehen wir aus allen bisher auseinander gesetzten Resultaten den Schluss, so können wir sagen:

1. Der Saccharomyces neoformans zeigt sich in den Geweben der Thiere vornehmlich in zweifacher Gestalt. In der einen besitzt er eine Kapsel und ist in den künstlichen Nährböden cultivirbar. In der anderen besitzt er keine Kapsel, ist vollkommen den von Russell beschriebenen Fuchsinkörperchen ähnlich und lässt sich in den künstlichen Nährböden nicht cultiviren. Diese zweite Form beobachtet man im Organismus nur dann, wenn der Parasit sich lange in ihm aufgehalten hat.



2. Wird der Saccharomyces neoformans in reiner Cultur in die Organe von Hunden eingeimpft, so kann er Veranlassung geben zur Entstehung epithelialer Geschwülste, welche in Bezug auf ihren Verlauf und ihre Structur den bösartigen Geschwülsten des Menschen ähnlich sind. Wird er dagegen Hunden, Katzen und Schafen in die Venen eingeimpft, so kann derselbe Parasit die Entstehung von Neubildungen bindegewebiger Natur veranlassen.

Wir wollen hoffen, dass die hier mitgetheilten positiven Resultate die Forscher ermuthigen, dieselbe experimentelle Untersuchungsweise mit jedwedem pathogenen Blastomyceten, auf welchen sie stossen, einzuschlagen, und dass derartige Untersuchungen das Wort: „Ende“ für alle diejenigen Arbeiten bedeuten, welche sich auf lediglich histologische Untersuchungen stützen, oder auch für jene experimentellen Arbeiten, welche, von einer irrthümlichen Beobachtung ausgehend, nichts weiter vollbracht haben, als die Zahl der skeptischen Forscher zu vermehren, welche nicht nur über die pathogene Wirkung der Blastomyceten, sondern auch über die Wichtigkeit, die diese für die Entstehung der bösartigen Geschwülste haben, lachen.

V.

Der Saccharomyces granulomatosus.

Ich will nun einen Blastomyceten beschreiben, welcher beim Schweine zur Bildung von Granulomen Veranlassung giebt. Im Januar 1896 wurde mir vom Director des Schlachthauses, Hrn. Dr. Loi, die Lunge eines Schweines zugesendet, welche sehr reich mit Knötchen, die in der Grösse zwischen einer Haselnuss und einem Hanfkorne schwankten, besetzt war. Diese Knötchen kamen sowohl an der Oberfläche, wie im Innern vor (Taf. V, Figg. 12 und 13). Beim Schnitt zeigten sich diese Knötchen ziemlich consistent, und ihr Inneres enthielt eine Substanz ähnlich wie Käse, so dass ich vermuthete, es würde sich um eine Form der Tuberculose handeln. Unter dem Mikroskope, mit Zusatz von etwas physiologischer Flüssigkeit untersucht, liess diese Substanz einen Detritus mit verschieden grossen kalkigen Massen und einige wenige Zellen mit ziemlich grossem Kern und einen runden Zellkörper erkennen. Die Präparate, welche davon angefertigt wurden, um den Tuberkelbacillus zur Anschauung zu bringen, ergaben ein negatives Resultat. Es wurden indessen Culturen in verschiedenen flüssigen und festen Nährböden angesetzt und mit der Emulsion der centralen Knötchensubstanz in sterilisirtem Wasser 6 Meerschweinchen in das Unterhautbindegewebe geimpft, ohne dass diese freilich durch die Impfung irgendwie litten. Aus allen Culturen wurde ein Blasto-



mycet isolirt, der, weil er Traubenzucker zur Gährung bringt, den generischen Namen Saccharomyces, und weil er Granulose erzeugt, den specifischen Namen granulomatogenes verdient.

Dieser Saccharomycet entwickelt sich gut in allen festen und flüssigen Nährböden mit saurer, neutraler oder leicht alkalischer Reaction. Auf Platten mit Gelatine und Agar bildet er Colonieen in der Tiefe und an der Oberfläche, von denen die ersteren kleiner, die letzteren grösser, vollkommen rund und weiss sind. In Strichculturen mit Agar bildet er einen feuchten weissen Ueberzug. Auf der Oberfläche von Kartoffeln ist der Ueberzug wenig erhaben und von graulicher Farbe. In Stichculturen in Gelatine entwickelt er sich an der Oberfläche und längs des Einstiches, ohne die Gelatine zu verflüssigen. An der Oberfläche ist der gebildete Ueberzug weiss und ein wenig erhaben, längs des Impfstiches entsteht ein gelblicher Streifen, welcher aus lauter kleinen, dicht an einander gelagerten Colonieen zusammengesetzt ist. Er gehört also zu der ersten von mir aufgestellten Gruppe der Saccharomyceten. Er entwickelt sich üppig auf Honig und Birnen und bildet dort einen rosenfarbenen Ueberzug, ähnlich jenem, welcher vom Micrococcus cinnabareus hervorgerufen wird. In Flüssigkeiten, welche Traubenzucker enthalten, gedeiht er sehr üppig, trübt die Flüssigkeit gleichmässig und bildet an der Oberfläche ein feines Häutchen, welches viele Gasbläschen enthält. Untersucht man die Culturen unter dem Mikroskope, so sieht man runde oder etwas ovale Zellen verschiedener Grösse, die aber im Allgemeinen viel kleiner als diejenigen vom Saccharomyces neoformans sind. Einige von den grossen und kleinen Zellen enthalten Vacuolen und einige weisen innerhalb der Vacuole ein glänzendes Körnchen auf, andere zeigen einen homogenen Inhalt ohne Vacuolen und ohne glänzende Körperchen. Es pflanzt sich dieser Blastomycet durch Knospung fort, und es ist mir niemals gelungen, die Bildung endogener Sporen zu beobachten. Er färbt sich mit den gewöhnlichen Lösungen der Anilinfarben und auch nach der Methode von Gram.

Sobald der Saccharomyces granulomatogenes in reiner Cultur isolirt war, wurde er Meerschweinchen, Kaninchen, weissen Ratten, Mäusen, Hunden und Hühnern in das Unterhautbindegewebe und in das Abdomen eingeimpft. Bei allen diesen Thieren hat er keine pathologische Erscheinung hervorgerufen. Ich beschloss daher, Impfungen an Schweinen vorzunehmen. Es wurden 4 Schweine, zwei direct in die Lungen, eines in das Unterhautbindegewebe und eines in die Bauchhöhle, geimpft. Bei der Impfung in die Lungen rief er bei den beiden Schweinen, von denen das erste nach $1^1/_2$ Monat, das zweite nach 2 Monaten getödtet wurde, Knötchen hervor, welche im Schnitte (Taf. V, Fig. 14) dasselbe makroskopische Aussehen hatten, wie bei dem ersten Schweine. Bei der Impfung



in das Unterhautbindegewebe bewirkte er an der Impfstelle ein Knötchen, welches nach einem Monate herausgeschnitten wurde und auf Schnitten die gleiche histologische Structur zeigte. Die Impfung in die Bauchhöhle hatte keine augenfällige Folgen, so dass das Thier nach 2 Monaten getödtet wurde. Bei der Section ergab sich, dass die Lymphdrüsen ein wenig vergrössert und die Milz leicht geschwollen war. Die Granulome der Lungen, welche zufällig zu meiner Beobachtung gelangten, und diejenigen, welche durch die reinen Culturen hervorgerufen worden waren, wiesen die gleiche Structur auf.

In Schnitten, in welchen jüngere Granulome vorhanden sind, sieht man das Centrum von einer Riesenzelle eingenommen, welche von einer Zone epitheloider Zellen umgeben wird, und diese ihrerseits wieder von Granulationselementen. Wenn sich mehrere dieser Bildungen vereinigen, so bekommt man die grösseren Knötchen, wie es auf Taf. VII, Fig. 5, zu sehen ist. Man sieht hier ein dickes Knötchen, welches viele Riesenzellen, umgeben von den epitheloiden Elementen und von den Granulationselementen, enthält. In den grössten Knötchen wird die Mitte von einem körnigen Detritus und von mehr oder minder grossen kalkigen Massen eingenommen. Die Parasiten sind ziemlich selten und meist in Zellen eingeschlossen (Taf. VII, Fig. 4). Innerhalb der Riesenzellen habe ich sie nicht angetroffen, wohl aber eingeschlossen in den Körper einiger epitheloider Zellen. Sie sind intensiv gefärbt und gewöhnlich von einem hellen, der intensiv gefärbten Zellsubstanz vollkommen parallelen Hofe umgeben. Ausser diesen sich intensiv färbenden Gebilden giebt es manche vereinzelte Parasitenformen, welche vollkommen zu einer kalkigen Masse degenerirt sind und oft concentrische Höfe zeigen (Taf. VII, Fig. 3). Man sieht ferner Kalkmassen, in denen man noch die einzelnen Blastomyceten unterscheidet, um welche herum die Abscheidung der kalkigen Masse stattgefunden hat. Es unterliegt also keinem Zweifel, dass die grossen Kalkmassen, welche in nichts mehr an die Gestalt der Parasiten erinnern, zum grössten Theile durch die von ihnen erlittene Verkalkung entstanden sind. Es handelt sich also hier um einen Blastomyceten, welcher wie der Saccharomyces lithogenes die Eigenthümlichkeit besitzt, in den Geweben unter der Bildung von Kalkmassen zu degeneriren. Es ist dies eine Eigenschaft, welche vielen Blastomyceten gemeinsam sein muss, welche aber bei einigen aus besonderen Gründen schneller und verbreiteter auftritt als bei anderen. Wir haben nun gesehen, dass auch der Saccharomyces neoformans die Eigenschaft besitzt, in den Geweben der Hunde und Katzen, denen er in die Venen eingeimpft wird, unter der Bildung von Kalkmassen zu degeneriren, aber in sehr beschränktem Grade.



Dieses von einem Blastomyceten hervorgerufene Granulom zeigt die typische Structur aller Granulome, welche wir bisher kennen. Es besitzt auch eine Phase der Degeneration, welche den bisher beschriebenen Granulomen gemeinsam ist. Es besteht also ein ganz deutlicher Unterschied zwischen den pathologischen Veränderungen, welche dieser granulomatogene Blastomycet hervorruft, und jenen, welche bei den Hunden, Katzen und Schafen durch die Einimpfung des Saccharomyces neoformans in die Vene entstehen.

Cagliari, den 11. Juli 1898.



Erklärung der Abbildungen.

(Taf. IV—VIII.)

Tafel IV.

Fig. 1. Geschwulst, hervorgerufen beim Hunde durch Einimpfung des Saccharomyces neoformans in die Hoden. Natürliche Grösse.

Fig. 2. Dieselbe Geschwulst mit abgezogener Haut. Natürliche Grösse.

Fig. 3. Dieselbe Geschwulst, zum Theil von den Aponeurosen befreit, um die Beziehungen der neoplastischen Masse mit den Corpora cavernosa und der Glans zu zeigen. Zur rechten Hand des Beschauers bemerkt man ein dickes metastatisches Knötchen; zur linken Hand mehrere kleinere metastatische Knötchen. Hinter und über der Glans befindet sich eine grosse neoplastische Masse, welche im Leben aus der Präpatialöffnung hervorragte und die Glans vortäuschte. Natürliche Grösse.

Fig. 4. Dieselbe Geschwulst von allen Aponeurosen befreit. Die Geschwulstmasse des Hodens ist gespalten. Der Penis ist nach links verschoben, um die ganze Geschwulst sehen zu lassen. Man sieht metastatische Knötchen von verschiedener Grösse und die obere neoplastische Masse, welche den Penis umgab. Natürl. Grösse.

Fig. 5. Inguinale Lymphdrüse, ergriffen von einer Geschwulst, welche durch die Einimpfung des Saccharomyces neoformans in die beiden hinteren Milchdrüsen einer Hündin hervorgerufen wurde. Natürliche Grösse.

Fig. 6. Kleine inguinale Lymphdrüse derselben Hündin mit Reproduction der Geschwulst. Natürliche Grösse.

Fig. 7. Geschwulst der hinteren, rechten Milchdrüse derselben Hündin. Ein Schnitt in der Richtung von vorn nach hinten, welcher auch die Brustwarze getroffen hat, ist hindurchgelegt. Natürliche Grösse.

Fig. 8. Kleine inguinale Lymphdrüsen derselben Hündin mit Reproduction der Geschwulst. Natürliche Grösse.

Fig. 9. Geschwulst der linken hinteren Milchdrüse derselben Hündin. Natürl. Grösse.

Tafel V.

Fig. 1. Mesenteriale Lymphdrüsen eines Schafes, welches in Folge von Einimpfung des Saccharomyces neoformans in die Venen gestorben war. Natürl. Grösse.

Fig. 2. Niere einer Katze, welche in Folge von Einimpfung des Saccharomyces neoformans in die Venen gestorben war. An der Oberfläche sieht man zahlreiche kleine Knötchen. Natürliche Grösse.

Fig. 3. Lunge derselben Katze mit zahlreichen Knötchen verschiedener Grösse an ihrer Oberfläche. Natürliche Grösse.



Fig. 4. Niere derselben Katze mit den gleichen Veränderungen, wie an der Niere in Fig. 2. Natürliche Grösse.

Fig. 5. Milz derselben Katze mit bedeutender Vergrösserung der Follikel. Natürliche Grösse.

Fig. 6. Gehirn eines Schafes, welches in Folge von Impfung mit dem Saccharomyces neoformans in die Venen gestorben war. Die Choroidealplexusse sind sehr verdickt und besät mit kleinen Knötchen. Natürliche Grösse.

Fig. 7. Lunge einer Katze, welche in Folge von Impfung mit Saccharomyces neoformans in die Venen gestorben war. An der Oberfläche sieht man verschiedene Knötchen wechselnder Grösse. Natürliche Grösse.

Fig. 8. Desgl. Desgl.

Fig. 9. Lymphdrüse eines Schafes, welches in Folge von Impfung mit Saccharomyces neoformans in die Venen gestorben war. Natürliche Grösse.

Figg. 10 u. **11.** Auge eines Schafes, welches in Folge von Impfung mit Saccharomyces neoformans in die Venen gestorben war. In Fig. 10 sieht man Knötchen auf der Retina. Natürliche Grösse.

Fig. 12. Lunge eines Schweines, welches in Folge von Impfung mit Saccharomyces granulomatogenes gestorben war. An der Oberfläche der Lunge sind zahlreiche Knötchen zu sehen. Natürliche Grösse.

Fig. 13. Schnitt durch die Lunge eines Schweines, welches in Folge von Impfung mit dem Saccharomyces granulomatogenes gestorben war. Natürl. Grösse.

Fig. 14. Lunge eines Schweines, welches in Folge von Impfung mit Saccharomyces granulomatogenes gestorben war. An der Oberfläche der Lunge gewahrt man zahlreiche Knötchen. Natürliche Grösse.

Tafel VI.

Fig. 1. Schnitt durch die Hauptgeschwulst des Hundes, welcher mit dem Saccharomyces neoformans in die Hoden geimpft worden war. Oc. 3, Obj. C Zeiss.

Fig. 2. Schnitt durch ein secundäres metastatisches Knötchen von demselben Hunde. Oc. 3, Obj. C Zeiss.

Fig. 3. Schnitt durch die Geschwulst der Milchdrüse der Hündin, welche mit dem Saccharomyces neoformans geimpft worden war. Oc. 4, Obj. A Zeiss.

Fig. 4. Schnitt durch den peripherischen Theil der Geschwulst derselben Hündin. Oc. 4, Obj. A Zeiss.

Tafel VII.

Fig. 1. Schnitt durch das inguinale Fettzellengewebe der Hündin, welche mit dem Saccharomyces neoformans in die Milchdrüsen geimpft worden war. In das Fettzellengewebe sind epitheliale Zellen der Geschwulst eingewandert. Oc. 3, Obj. C Zeiss.

Fig. 2. Schnitt durch eine inguinale Lymphdrüse, in welche die epithelialen Gewebe der Geschwulst eingewandert sind; von derselben Hündin. Oc. 3, Obj. C Zeiss.

Fig. 3. Schnitt durch eine inguinale Lymphdrüse derselben Hündin. Zwischen den eigenen Elementen der Lymphdrüse erblickt man die epithelialen Elemente der Geschwulst. Oc. 3, Obj. C Zeiss.

Fig. 4. Schnitt durch die Hauptgeschwulst des Hundes, welcher mit dem Saccharomyces neoformans in die Hoden geimpft wurde. Während das Gewebe vom Safranin roth gefärbt ist, zeigen sich die endocellulären und frei liegenden Parasiten von dem Gentianaviolett violett gefärbt. Oc. 3, Obj. $^1/_{12}$ Koristka.

Fig. 5. Schnitt durch die Choroidealplexusse eines Schafes, welches in Folge von Einimpfung des Saccharomyces neoformans in die Venen gestorben war. Zwischen den Zellenelementen der Filtration sieht man in den Zellen gelegene Parasiten. Oc. 3, Obj. $^1/_{12}$ Koristka.

Tafel VIII.

Fig. 1. Schnitt durch eine mesenteriale Lymphdrüse einer Katze, welche in Folge von Impfung mit dem Saccharomyces neoformans in die Bauchhöhle gestorben war. In den an gewucherten lymphoiden Elementen reichen Follikularsträngen sieht man verschiedene Parasiten. Oc. 3, Obj. C Zeiss.

Fig. 2. Schnitt durch die Niere einer Katze, welche in Folge von Impfung mit dem Saccharomyces neoformans in die Venen gestorben war. Zwischen den Nierencanälchen bemerkt man ein Knötchen von kleinzelliger Infiltration mit verschiedenen Gruppen von Parasiten. Oc. 3, Obj. A Zeiss.

Fig. 3. Schnitt durch ein granulöses Knötchen aus der Lunge eines Schweines, welches in Folge von Impfung mit dem Saccharomyces granulomatogenes gestorben war. Zwischen den Elementen der Granulationszellen sieht man einen verkalkten Parasiten mit concentrischen Höfen. Oc. 3, Obj. $^1/_{12}$ Koristka.

Fig. 4. Schnitt durch die Lunge desselben Schweines. Unter den Granulationselementen befinden sich zwei, welche in ihrem Zellkörper Parasiten enthalten. Oc. 3, Obj. $^1/_{12}$ Koristka.

Fig. 5. Schnitt durch die Lunge desselben Schweines. Oc. 2, Obj. A Zeiss.

[Aus dem hygienischen Institut der Königl. Universität zu Breslau.]

Beiträge zur Frage der Durchgängigkeit von Darm und Nieren für Bakterien.

Von

Dr. E. Opitz,
z. Z. Assistenzarzt der Königl. Universitäts-Frauenklinik in Berlin.

1. Durchgängigkeit des Darmes.

In den letzten Jahren ist vielfach der Versuch gemacht worden, die bei einigen Bakterien, z. B. dem Bacillus der Fleischvergiftung Kaensche (48[a]) beobachtete Fähigkeit, die Darmwand zu durchdringen und eine septische Infection des Körpers herbeizuführen, zu verallgemeinern. Es lag ja auch nahe, für die von verschiedenen Seiten berichteten Bakterienbefunde im Blute die Quelle im Darme zu suchen, der normaler Weise so zahlreiche, zum Theil pathogene Bakterien beherbergt, Bestrebungen, die zur Aufstellung des Krankheitsbildes der „Darmsepsis" führten. Inzwischen ist durch zahlreiche Untersuchungen einwandsfrei festgestellt worden, dass der grösste Theil jener Bakterienbefunde im Blute auf Fehlern in der Technik beruhte. Die Frage aber, ob der normale Darm für Bakterien durchgängig ist oder nicht, ist vielfach in bejahendem Sinne beantwortet worden, einige französische Autoren besonders gehen sogar so weit, einen regelmässigen Durchtritt von Bakterien in den Säftestrom zusammen mit der aus dem Darme aufgenommenen Nahrung feststellen zu wollen.

In einer aus dem Flügge'schen Institute hervorgegangenen Arbeit tritt M. Neisser (72) diesen Bestrebungen entgegen auf Grund einer Reihe von Versuchen. Diese Arbeit ist Gegenstand einer abfälligen Kritik



von Seiten Béco's (8) geworden. Der belgische Forscher stützt sich dabei auf eine eigene, von Neisser übersehene, experimentelle Arbeit (7). Der Zweck der folgenden Zeilen ist es, die Einwände Béco's auf ihre Berechtigung zu prüfen und mit Hülfe neuer Versuche die beregte wichtige Frage einer definitiven Lösung näher zu führen. Zunächst muss ich auf den ersten Aufsatz von Béco etwas näher eingehen.

Béco stellt sich zwei Fragen:

1. Geschieht das Eindringen der Mikroben aus dem Darme während des Lebens oder nach dem Tode?

2. Ist dieses Eindringen an Erkrankungen oder functionelle Störungen des Darmcanals gebunden?

Zur Beantwortung werden Leichenuntersuchungen und das Experiment herangezogen.

Von 27 menschlichen Leichen wurde $^1/_4$ bis $^3/_4$ Stunden nach dem Tode die Milzpulpa untersucht, später bei der Autopsie (nach 24 Stunden) von einer anderen Stelle der Milz nochmals Material entnommen, ausserdem 11 Mal von der Thyreoidea und 12 Mal vom Herzblut Culturen angelegt.[1] Es fanden sich in 11 Fällen unmittelbar nach dem Tode nur das Bacterium coli, in 4 Fällen daneben Staphylokokken, welche aber bei der Autopsie verschwunden waren. 1 Mal wurde das Bacterium coli nur im Herzblut und 2 Mal nur in der Thyreoidea gefunden. 4 Mal trat es erst bei der Section in der Milz auf. In 7 Fällen wurden nirgends Bakterien gefunden. Für die 4 Fälle, in denen das Bacterium coli erst bei der Section sich zeigte, wird die Annahme einer postmortalen Einwanderung zurückgewiesen. Die Blutinfection erfolge bei vielen Kranken in den letzten Lebensstunden, unabhängig von Darminfectionen.

Nach dem Vorgange von Bonchard (14) und Wurtz (110) trat er der Frage experimentell näher.

Das Resultat der Versuche war Folgendes:

1. 3 Kaninchen plötzlich getödtet, sämmtliche Organe steril.

2. 3 Kaninchen mit Arsenik vergiftet, Tod nach 15 bis 30 Stunden. Bei allen Thieren zahlreiche positive Röhrchen; gefunden wurde Subtilis, ein Streptococcus, Bacterium coli und Proteus vulgaris.

3. 1 Hund, 4 Kaninchen per os mit Cantharidin vergiftet, Tod nach $^1/_2$ bis 6 Tagen. Bei dem nach 12 Stunden gestorbenen Thiere Organe steril, bei den anderen fanden sich Bakterien.

4. Brechweinstein, subcutan in verschiedenen Dosen. Trat der Tod nach $2^1/_2$ bis 7 Tagen ein, so waren Bakterien ins Blut übergegangen (7 Kaninchen).

---

[1] Leider sind über die hier angewandte Technik, ebenso wie über die Dosen der zur Vergiftung der Thiere in den Experimenten verwandten Arzneimittel, genauere Angaben nicht gemacht.



Bei grösseren Dosen, die den Tod vor 24 Stunden herbeiführen, bleiben die Organe steril (6 Kaninchen). Bei so schnell vergifteten Thieren fanden sich die Organe auch steril, wenn die Section erst 24 Stunden bis 9 Tage nach dem Tode gemacht wurde, während die Thiere bei 15° gelegen hatten.

Aus diesen Resultaten zieht Béco den Schluss, dass langsame Vergiftung zum Eindringen von Darmbakterien in den Kreislauf während des Lebens führt, nicht so die schnelle Vergiftung. Nur sehr langsam wird der beim Tode nicht inficirte Leichnam von Bakterien besetzt.

Ich glaube, dass die Sterilität der Organe bei den schnell vergifteten Thieren auch nach langem Liegen sich einfach dadurch erklären lässt, dass die angewandten Mittel selbst in der nöthigen Concentration vorhanden waren, um, wenn auch nicht die vorhandenen Bakterien zu tödten, so doch ihre Entwickelung zu hemmen. Wissen wir doch, hauptsächlich aus den Arbeiten von Koch und Behring, dass dazu schon sehr geringe Concentrationen antiseptisch wirkender Körper genügen.[1]

Ferner ist zu bemerken, dass der Werth der Züchtung in flüssigen Medien beträchtlich geringer ist als derjenige in festen Substraten. Nur durch die letztere Methode allein ist es möglich, die Menge der ausgewachsenen Keime, ihre Natur und ihr Verhältniss unter einander, sowie eventuelle Verunreinigungen als solche festzustellen, nicht aber durch die Bouilloncultur. Noch mehr beeinträchtigt wird der Werth der Versuche durch die Mittheilung, dass in den als positiv gerechneten Fällen „zahlreiche" Röhrchen Bakterienwachsthum zeigten. Das heisst doch wohl, dass ein Theil der Röhrchen steril blieb, was beim wirklichen Vorhandensein von Bakterien in einigermassen beträchtlichen Mengen ausgeschlossen wäre. Zufällige Verunreinigungen können in den negativen Fällen durch das mit den untersuchten Organen übertragene Antisepticum am Auskeimen verhindert worden sein und in den positiven Fällen die alleinige Ursache der beobachteten Trübung der Bouillonröhrchen gebildet haben.

Auf dieser angeführten Arbeit fussend, greift Béco in einem neuen Aufsatz M. Neisser an und sucht die Resultate desselben in Frage zu stellen. Zur Beweisführung werden die Versuche von Nocard (74) und Desoubry et Porcher (28) angeführt, nach denen während der Verdauung grosse Mengen von Bakterien mit dem Chylus fortgeführt würden und in den Kreislauf gelangten.

Angesichts der entgegengesetzten Resultate M. Neisser's fordert Béco indessen noch weitere Untersuchungen über die Grenze, bis zu der die Schutzkraft der Darmmucosa reicht.

Ob die Invasion des Körpers durch das Bacterium coli erst nach dem Tode oder in agone erfolgt, sucht Verf. durch seine oben citirten Wahr-

---

[1] Vergl. auch Gottschlich in Flügge's *Mikroorganismen*. I. S. 433ff.



nehmungen festzustellen. Aus dem Resultate dieser und der Beobachtung, dass bei Versuchsthieren, die, zu anderweitigen Zwecken benutzt, an Durchfällen eingingen, sich unmittelbar nach dem Tode in allen Organen das Bacterium coli fand, und analogen Beobachtungen von Teissier zieht Béco den Schluss, dass gegen das Lebensende häufig die Darmwand für die Darmbakterien durchgängig wird. Ja, es sei sogar möglich, mit grosser Sicherheit experimentell das Durchwandern der Darmbakterien durch die Darmwand zu bewirken. Das Eindringen sei aber ein accessorischer Vorgang ohne Bedeutung für das Fortbestehen des Lebens. Denn Wurtz und Hudélo (112) fanden bei Thieren nach Verabreichung nicht tödtlicher Dosen Alkohol in den Organen keine Bakterien, ebenso der Verf. bei seinen Versuchsthieren, die erst 2 bis 4 Wochen nach Vergiftung mit Fowler'scher Lösung starben.

Beim Vergleich mit den Tabellen in der Neisser'schen Arbeit wendet sich Verf. gegen die Auffassung, dass ein Theil der erhaltenen, nicht sterilen Sectionen auf Versuchsfehler zu beziehen sei und nimmt das Resultat, im Gegensatz zu Neisser, als Beweis für seine Auffassung an.

Der Eintritt der Leichenfäulniss scheint dem Verf. davon abzuhängen, ob in Agone ein Durchtritt von Bakterien durch die Darmwand statt hatte oder nicht. Es sei möglich, dass bei geringer Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit die Bakterien den Darm durchdringen könnten, aber im Blute zerstört oder durch die Niere ausgeschieden würden. Unter anderen Umständen könnten sich diese Bakterien in den wenig widerstandsfähigen Organen festsetzen und eine „latente multiplication" finden (S. 517). Als Beispiel wird ein Fall angeführt, in dem bei vollstem Wohlsein 6 Jahre nach überstandenem Gelenkrheumatismus plötzlich eine Peritonitis ausbrach, die von einer durch den Staphylococcus pyogenes albus zur Vereiterung gebrachten Mesenterialdrüse ausging. Hier soll die Infection vom Darme ausgegangen sein (und 6 Jahre latent bestanden haben?). Béco glaubt gezeigt zu haben, dass Neisser sich im Widerspruche befinde mit den festgelegten wissenschaftlichen Erfahrungen. —

Auf einige Punkte der Arbeit Béco's sei gleich an dieser Stelle eingegangen! Dem zuletzt angeführten Falle kann ich nicht die geringste Beweiskraft für Béco's Anschauungen zuerkennen, da ein Zusammenhang zwischen der vor 6 Jahren stattgehabten Darmerkrankung und der Vereiterung der Mesenterialdrüse auch nicht im entferntesten wahrscheinlich gemacht ist.

Der gegen M. Neisser erhobene Vorwurf, dass er sich im Widerspruche mit seinen sonst vertretenen Anschauungen als Anhänger der „Coli-Bacillosis" bekenne, beruht lediglich auf einem Missverständnisse. Neisser's Angabe, dass die Möglichkeit des Durchdringens der Darmwand für einzelne der „zur grossen Gruppe der Colibakterien gehörigen Arten" erwiesen sei, bezieht sich auf die Bakterien der Fleischvergiftung[1]

[1] Vgl. Kaensche (48a).



und ist lediglich im botanischen Sinne zu verstehen. Damit erledigt sich also die Sache von selbst.

Bezüglich der Litteratur über den Gegenstand kann ich auf die M. Neisser'sche Arbeit verweisen, nur einige Arbeiten muss ich zur Ergänzung und Fortführung der dort gemachten Angaben besprechen.

Wurtz und Herman (109) fanden bei 32 Leichen, von denen 26 an Tuberculose zu Grunde gegangen waren, 24 bis 36 Stunden nach dem Tode 15 Mal in der Leber, 12 Mal in den Nieren und 6 Mal in der Milz das Bacterium Escherich, und zwar war dasselbe, wenn in der Milz, so auch in den anderen Organen vorhanden. Die Frage, ob es sich dabei um eine Leichenerscheinung oder eine Einwanderung während des Lebens handelt, ist nicht zu beantworten.

Létienne (62) fand in 24 von 42 untersuchten Gallenblasen von menschlichen Leichen Bakterien (16 Arten). Wie lange nach dem Tode die Untersuchung vorgenommen wurde, ist nicht angegeben, so dass den Angaben nicht viel Werth beizumessen ist. 4 von 5 getödteten Meerschweinchen hatten in Galle und Urin Bakterien, eine Angabe, die den bisher bekannten Thatsachen widerspricht. Verf. sucht sie durch die Annahme einer latenten Erkrankung der Thiere zu erklären.

Korkunoff (57) spricht sich auf Grund von Versuchen mit Bac. Neapolitanus und Milzbrand dafür aus, dass eine Infection vom Darmcanal bei normaler Schleimhaut nicht möglich ist.

Lesage et Mecaigne (61) fanden in Uebereinstimmung mit Welch (113) nur bei Darmveränderungen das Bact. coli in den Organen. Die Galle scheint zuerst inficirt zu werden, und zwar schon während der Agone. In die Lungen scheinen bei Lungenkrankheiten auch Bakterien einzuwandern.

Ackard und Phulpin (1) untersuchten 49 Fälle während der letzten Lebensstunden und nach dem Tode auf die Anwesenheit von Bakterien im Venenblute und der Leber. Bei 10 Patienten fanden sie in agone Bakterien im Blut oder in den Organen.

In den positiven Fällen hatte die Untersuchung stattgefunden 10 Minuten bis 8 Stunden vor dem Tode. In 24 Fällen wurden erst nach dem Tode Mikroorganismen gefunden, meist zuerst in der Leber. Die Verfasser meinen eine Abhängigkeit der Schnelligkeit der Einwanderung nach dem Tode in die Organe von der Temperatur und von der Art der Erkrankung feststellen zu können. Die Leber wird am leichtesten und dementsprechend meist zuerst inficirt, das Blut kann von hier aus, direct vom Darm oder auch unter besonderen Umständen von der Lunge aus inficirt werden.

Nach Wurtz und Hudélo (112) kann eine Vergiftung mit nicht tödtlichen Dosen Alkohol den Durchtritt von Bakterien ins Peritoneum und das Blut hervorrufen.

Gilbert et Fournier (39) folgern aus dem Befunde, dass von 30 untersuchten Gallensteinen (27 vom Menschen und 3 vom Rinde) 11 lebende Bakterien enthielten, dass bei Lebzeiten ein Eindringen von Bakterien in die Gallenblase stattfinde und so zu Concretionen Veranlassung geben könnte.



Sehr werthvolle Beiträge zur vorliegenden Frage enthält die Dissertation von Birch-Hirschfeld (9), die eine sehr reichhaltige Litteraturübersicht bringt. Die Annahme Béco's, dass ein postmortales Eindringen des Bacterium coli nicht die Regel bilde, ebenso, dass den Weg der Einwanderung die Blutbahn bilden müsse, wird von Birch-Hirschfeld zurückgewiesen; dagegen bestätigt er nach eigenen Versuchen den Schluss Béco's, dass zwischen Darmaffectionen und Einwanderung kein Zusammenhang bestehe. Für die Möglichkeit der Durchwanderung des Bacterium coli durch die Darmwand nach dem Tode sprechen Schnittpräparate vom gesunden Darm, die in allen Schichten, auch in der Serosa, Stäbchenbakterien nachweisen liessen, und das Ergebniss eines Versuches, in dem aus einer sofort nach dem Tode herausgenommenen Darmschlinge durch die Wand das Bacterium coli und eine verflüssigende Stäbchenart in die umgebende Bouillon auswanderten. Eine steril herausgenommene und 24 Stunden in einer Colibouilloncultur belassene Mäuseniere zeigte zahlreiche Stäbchen in den davon angefertigten Schnittpräparaten, hauptsächlich in den Gefässen, aber auch durch das gesammte Gewebe zerstreut. Ferner weist Birch-Hirschfeld auf die Möglichkeit eines agonalen Einwanderns von Bakterien von der Lunge aus hin. Den Schluss der Arbeit bildet die Besprechung der Untersuchung von 20 Leichen in verschiedener Zeit nach dem Tode in Bezug auf den Augenblick des Erstauftretens des Bacterium coli in den Organen. Es konnte kein bestimmter Typus der Reihenfolge, in der die Organe befallen werden, und für den Grad der Beeinflussung durch die Temperatur festgestellt werden.

„Von besonderem Interesse ist der Umstand, dass auch bei plötzlichen Todesfällen, die, wie die Section ergab, ganz gesunde Individuen betrafen (1 Apoplexie, 2 Selbstmorde, 2 Verbrennungen), Bacterium coli in relativ kurzer Zeit nach dem Tode in den Organen der Leiche nachzuweisen war.“ Die kürzeste Zeit nach dem Tode, zu welcher Bakterien im Blute oder den Organen nachgewiesen werden, ist eine Stunde. Nur in einem einzigen Falle (XV, Apoplexie) fanden sich bei der ersten Untersuchung $1^1/_2$ Stunden post mortem in keinem der Organe Bakterien. Die erste Entnahme geschah in 16 Fällen zwischen 1 bis 5 Stunden, in 2 Fällen nach 9 Stunden und bei den beiden Selbstmördern 17 Stunden nach dem Tode.

Mit demselben Gegenstande beschäftigt sich Hauser (43) in einer sehr sorgfältigen Arbeit. Er untersuchte bei 80 Leichen Blut, Galle und Harn und fand nur 11 Mal keine Bakterien. Unter diesen sind gewiss noch einige (vergl. Fall 10), bei denen sich in den Organen durch anaërobe Züchtung Bakterien hatten nachweisen lassen, die ohne dies der Feststellung entgingen. Staphylokokken fand Hauser nur 3 Mal, während sie sonst viel häufiger beobachtet wurden. Dieser Umstand spricht sehr gegen die Verlässlichkeit anderer Angaben, da Staphylokokken in der Luft und auf der Haut so ausserordentlich verbreitet sind und deshalb sehr häufig zu Verunreinigungen Veranlassung geben können. (Vergl. hierüber Kühnau [60].)

Die Lufttemperatur scheint nach Hauser einen bedeutenden Einfluss auf die Schnelligkeit des Eindringens der Bakterien auszuüben.

Zum Nachweis der Möglichkeit einer postmortalen Wanderung wurden in getödteten Thieren und in Menschenleichen in verschiedenen Körperhöhlen Pyocyaneusculturen eingegossen und nach Ablauf einiger Zeit entfernt und nahe liegende Organe auf das Vorhandensein dieser Bakterien untersucht.



In einem grossen Procentsatz der Fälle, der sich nach Art der Lage der Cadaver und des gewählten Eingussortes änderte, fanden sich die Bakterien wieder. Beim Menschen war die Zahl der positiven Fälle erheblich geringer als bei Thieren, ein Umstand, der von Hauser meines Erachtens mit Recht auf den grossen Unterschied der Körpergrösse und der Temperatur — diese war für die Thierversuche höher — zurückgeführt wird. Die Art der Verbreitung zeigte durchaus nichts Typisches.

Den Schlüssen Hauser's, dass die Möglichkeit einer rein postmortalen Wanderung hierdurch erwiesen ist und dass Folgerungen aus den postmortalen bakteriologischen Befunden nur mit grosser Vorsicht zu ziehen sind, kann man nur beipflichten. Man muss ja noch berücksichtigen, dass der Pyocyaneus als fast obligater Aërobier und mit geringerer Beweglichkeit, als z. B. das Bacterium coli ausgestattet, unter sehr ungünstigen Verhältnissen sehr häufig sich weit in den Leichen verbreitet hat, trotzdem er sich seinen Weg im Kampfe gegen schon angesiedelte Mikrobien bahnen musste. Sehr viel günstiger liegen natürlich die Bedingungen für eine Ausbreitung des Bacterium coli, so dass man auf die Möglichkeit einer sehr schnellen Wanderung dieses und anderer Mikrobien rechnen kann.

Chvostek und Egger (23) berichten über Experimente, die im Anschluss an Bouchard, Wurtz, Charrin und Béco an einer grossen Reihe von Thieren angestellt wurden. Es fanden sich unter 13 erfrorenen Kaninchen bei 4 im Blut des Herzens und der Vena cava Bakterien; die Controlthiere ergaben durchweg ein negatives Resultat. In 50 Serien von je 3 Mäusen, deren eine durch Genickstich, eine durch Erfrieren getödtet, und bei noch schlagendem Herzen auf den Keimgehalt des Herzblutes untersucht wurde, während die dritte erst zwei Stunden nach dem Tode zur Untersuchung kam, erhielten die Forscher bei den Controlthieren 3 Mal, bei den erfrorenen und bei noch schlagendem Herzen untersuchten Mäusen 22 Mal, aber bei den 2 Stunden nach dem Tode geprüften Thieren nur 8 Mal Bakterien auf den Platten. Von 14 im Hungerzustande erfrorenen Mäusen ergab nur eine ein positives Resultat. Im Blute von 31 erstickten Mäusen wurden 6 Mal Bakterien gefunden. Die Befunde bei den schnell getödteten und im Hungerzustande untersuchten Thieren werden als Versuchsfehler gedeutet, während die Häufigkeit der positiven Ergebnisse (44 Procent bezw. 16 Procent) bei den anderen Thieren den Verfassern dafür zu sprechen scheinen, dass während der letzten Augenblicke des Lebens thatsächlich eine Einwanderung von Mikroorganismen in die Blutbahn stattgefunden hat, als deren wahrscheinlichster Ort der Darm angenommen wird. Eine weitere Reihe von Versuchen an 27 Paaren Mäuse, die durch Erfrieren bezw. plötzlich getödtet und 12 Stunden post mortem untersucht wurden, ergab als Resultat 14 positive Fälle bei den plötzlich getödteten und 8 bei den erfrorenen Thieren (52 Procent bezw. 30 Procent). Die Erklärung für diesen Unterschied sehen Chvostek und Egger in dem geringen Kothgehalt des Darmes bei den erfrorenen Thieren.

Das Peritoneum, das jedes Mal mit untersucht wurde, gab etwas höhere positive Zahlen als das Blut. Nur bei den erfrorenen Thieren, die bei



schlagendem Herzen untersucht wurden, kamen weniger positive Befunde vor (44 Procent gegen 34 Procent). Leider ist nicht gesagt, ob immer bei den einzelnen Thieren die Befunde übereinstimmten und wie häufig Blut und Peritoneum verschiedene Befunde lieferten. Auffallend sind die hohen und nur wenig von einander verschiedenen Zahlen der positiven Befunde im Peritoneum bei den 12 Stunden post mortem secirten Thieren (70 Procent und 67 Procent), während der Unterschied im Blutbefunde weit grösser ist (52 Procent und 30 Procent). Die Verfasser glauben den Nachweis geliefert zu haben, dass unter Umständen agonal eine Invasion von Mikrobien in die Blutbahn erfolgen kann, und zwar mit Sicherheit vom Darme aus. Die Ursache für die Bakterieninvasion bilden günstigere Bedingungen für den Austritt der Bakterien aus dem Darm und verminderte vitale Energie der Gewebe.

Im Zusammenhange mit dieser Arbeit steht ein weiterer Aufsatz Chvostek's (22). Unter Berücksichtigung der Litteratur kommt er zu dem Schlusse, dass postmortale bakteriologische Befunde nur von sehr beschränktem Werthe sind, auch beim Nachweise pathogener Arten, sofern diese nur im Darme oder sonst vorkommen können (S. 27, 34), dass gegenüber der erwiesenen(?) Möglichkeit eines agonalen Eindringens von Bakterien selbst der geführte Nachweis eines postmortalen Eindringens von Mikroorganismen aus Darm, Lunge u. s. w. in den Hintergrund treten müsse (S. 15) und dass keinesfalls die frühere Ansicht zu Recht bestehen kann, wonach nur schwere anatomische Veränderungen der Darmwand den Durchtritt von Bakterien ermöglichen würden (S. 17).

Bezüglich des ersten Punktes kann ich mich ihm nur anschliessen. Aber die für die letztere Ansicht angezogenen Arbeiten von Bizzozzero (10) und Ribbert (85) betonen gerade, dass diese Verhältnisse nur im Coecum des Kaninchens, sonst nirgends und bei keinem anderen Thiere gefunden seien und die Bedeutung ihrer Befunde ist durch Manfredi (69), der aus der Darmwand keine Bakterien züchten konnte, zu Nichte gemacht worden. Dass nach Abbindung des Darmes, wie sie Lewin und Posner (83) vornahmen, ein Befund von Bacterium coli in Peritoneum und Blase nichts für normale Verhältnisse beweist, liegt doch bei dem colossalen Eingriff auf der Hand. Ebenso steht es mit Boennecken (11); dessen mikroskopischen Präparaten stehen die weiter unten erwähnten von Bosc und Blanc gegenüber.

Der Erklärung Chvostek's für die auffallende Thatsache, dass der Procentsatz der positiven Befunde im Blute erfrorener Mäuse bei Untersuchung in agone höher ist als 2 Stunden post mortem, kann ich nicht beipflichten. Die während des Lebens in die Circulation gelangten Keime sollen z. B. den baktericiden Kräften des Blutes nach dem Tode zum Opfer fallen und ein weiteres Einwandern aus dem Darme unterbleiben. Viel natürlicher scheint es mir, die Ursache des Unterschiedes in den Befunden mit Trombetta (102) und entsprechend den oben angeführten



Befunden von Birch-Hirschfeld und Hauser in dem ungleichmässigen Einsetzen der Fäulniss in den verschiedenen Organen zu suchen, eine Erklärung, die Chvostek und Egger ohne Begründung zurückweisen.[1] Auch die Annahme, dass die Kothentleerung bei den erfrorenen Mäusen der zweiten Versuchsreihe die geringere Zahl positiver Befunde gegenüber den schnell getödteten Mäusen verursachen soll, ist nicht sehr wahrscheinlich. Es bleibt auch dann noch immer eine ungeheuere Zahl Bakterien im Darme, die bei der nach Chvostek für eine Einwanderung günstigen Hyperämie des Darmes und der herabgesetzten Vitalität der Epithelien zu einer schnellen Ueberfluthung der Organe mit Bakterien führen müssten. Zusammengehalten mit den Peritonealbefunden und der geringen Zahl positiver Befunde im Blute bei den erfrorenen und 12 Stunden post mortem untersuchten Mäusen scheint mir nichts weiter daraus hervorzugehen, als dass hier Verhältnisse vorliegen, die ausserordentlich wechselnd sind und deren Bedingungen wir noch nicht auch nur annähernd beurtheilen können. Welche Rolle Versuchsfehler dabei spielen, lässt sich auch nicht procentualiter bestimmen. So z. B. ist die Schwierigkeit, steril zu seciren, bei den noch lebenden Thieren gewiss erheblich grösser und die Nothwendigkeit, sich zu beeilen, um das Herz noch in Thätigkeit vorzufinden, wirkt nicht fördernd auf die Asepsis. Das Einzige, was mir erwiesen zu sein scheint, ist, dass postmortal eine sehr schnelle Invasion erfolgen und dass dieselbe vielleicht schon agonal beginnen kann. Wie weit dafür der Darm in Betracht kommt, ist nicht festgestellt.

Während des Lebens suchte Macklezew (65) in ähnlicher Weise wie Boennecken die Durchgängigkeit der Darmwand für Bakterien zu prüfen. Er fand, wenn er den Darm abklemmte und in einen Condom schob, oder ihn an zwei Stellen ligirte, den Anus vernähte oder die Darmvenen abklemmte, bei der nach einiger Zeit wiederholten Laparotomie und Aufsaugen der Flüssigkeit mit Watte häufig Bakterien, auch wenn nur Hyperämie eingetreten war.

Bei der Schwierigkeit, mit Sicherheit Verunreinigungen bei dem vielen Manipuliren auszuschliessen, ist wohl für die vertretene Ansicht nichts bewiesen.

Teissier (99) fand zuweilen nach intrastomachaler Darreichung des Tetragenus Uebergang ins Blut und Sepsis, dabei waren aber stets intensive Darmentzündung und zuweilen Abscesse vorhanden, die mir eine allgemeine Infection erklären, auch ohne die Annahme einer Durchgängigkeit der unverletzten Darmwand.

---

[1] Ein classisches Beispiel für diese Ungleichmässigkeit ist der Sectionsbefund bei Kaninchen 6 in meinen Protocollen.







Bosc et Blanc (12 und 13) fanden bei mikroskopischer Untersuchung der Darmwand von eingeklemmten Brüchen Bakterien nur bei Epitheldesquamation und Nekrose mit Hämorrhagieen. Die Bakterien waren nur in der Mucosa und Submucosa nachzuweisen, nicht in der Muscularis, bis auf wenige Keime im Innern erweiterter Gefässe, ziemlich zahlreich aber unter dem Peritoneum. Nur bei sehr schweren Veränderungen waren sie überall reichlich. Bei leichten Läsionen findet keine Einwanderung statt. Das intacte Epithel bildet eine Schranke; ist es zerstört, so dringen die Bakterien ein, finden aber in der Muscularis grossen Widerstand. In den Bruchsack dringen sie unter solchen Umständen auch vor, das Bacterium coli zeigt dann vermehrte Virulenz.

Bei einzelnen Thierversuchen fanden die Autoren nichts, bei anderen Bacterium coli und Kokken.

Wie man sieht, sind sehr verschiedene Meinungen über die Frage der Bakterienwanderung durch den Darm vertreten. Zur weiteren Klärung der Sachlage habe ich deshalb auf Veranlassung des Hrn. Professor Flügge eine Reihe von Untersuchungen vorgenommen, die zum Theil eine directe Fortsetzung der Versuche M. Neisser's darstellen.

Es wurden 101 Mesenterialdrüsen von 45 Rindern und 29 Drüsen von 12 Kälbern auf ihren Keimgehalt untersucht.

Die Technik war folgende: Aus dem Mesenterium frisch geschlachteter Rinder wurden die Drüsen ausgeschält, sofort ins hygienische Institut gebracht und verarbeitet. Um den Einwand auszuschliessen, dass etwa ein verwandtes Desinficiens die Entwickelung von Keimen verhindere, liess ich die von Neisser angewandte Sublimatspülung fort. Nach Befestigung der Drüsen auf einem Brette vermittelst ausgeglühter Nadeln wurde das Fett abpräparirt, ein grosser Theil der Oberfläche mit dem Paquelin verschorft und aus diesem Theile mit ausgeglühtem und abgekühltem Messer ein Stück Gewebe herausgeschnitten, das in Gelatine oder Agar gegeben wurde. Von der so entstandenen Oeffnung aus drang ich mit dem Messer oder später mit einem feinen scharfen Löffel tief in die Drüse unter den nicht verschorften Theil ein, wo also auch jede Hitzewirkung ausgeschlossen war, und beschickte mit reichlichem Gewebssaft von jeder Drüse mehrere Agar- und Gelatineplatten, welche mindestens 3 Tage lang beobachtet wurden.

Ich muss dabei 2 Reihen von Versuchen unterscheiden. Bei der ersten verwandte ich Messer mit Holzgriffen, die ich ausglühte. Das Resultat war, dass von 43 Drüsen aus 20 Rindern ich nur 12 als steril bezeichnen konnte, da auf den übrigen Platten stets einzelne Colonieen von Subtilis und einer wurzelförmigen Bacillenart aufgingen. Wie sich nachträglich herausstellte, stammten diese Colonieen von den Messergriffen, von denen in Folge der Erhitzung und Abkühlung feine Theile los-



gesprungen sein müssen, die noch keimfähige Sporen trugen. Von der 2. Reihe (58 Drüsen aus 25 Rindern) erhielt ich von 50 Drüsen sterile Platten, bei den anderen 8 waren Keime vorhanden, die aber lediglich als Verunreinigungen aufzufassen sind, schon aus dem Grunde, weil sie meist ganz oberflächlich lagen. Zu bedenken ist ferner, dass bei einer derartigen Arbeit eine beträchtliche Zahl von Verunreinigungen ganz unvermeidlich ist. Zunächst werden zuweilen beim Herausnehmen der Drüsen kleine, nicht sichtbare Einrisse entstehen, die während des weiten Transportes vom Schlachthofe zum Institute den durch die schmutzigen Schlächterhände und sonstwie auf die Oberfläche gebrachten Keimen ein Eindringen in die Drüsen ermöglichen. Da ohne Verletzung der Drüsenkapsel ein ganz sorgfältiges Abpräpariren des Fettes nicht immer möglich ist, so spritzen beim Absengen oft Tröpfchen geschmolzenen Fettes herum und können, widerstandsfähige Sporen in noch keimfähigem Zustande enthaltend, auf die schon abgesengte Fläche fallen und dadurch zu Verunreinigungen der Platten Veranlassung geben. Abgesehen von den allbekannten Verunreinigungen aus der Luft, waren die gleichen Bakterienarten stets bei mehreren, am selben Tage verarbeiteten Drüsen zu finden, die zusammen in einem Gefäss befördert worden waren, was auch für die Natur der Colonieen als Verunreinigungen spricht. Stets waren die aufgegangenen Keime wenig zahlreich, während man bei einem Ursprunge aus dem Inneren der Drüsen sehr viele erwarten müsste. Denn fände eine Durchwanderung der Darmwand mit dem Nahrungsfett statt, so müsste man entsprechend dem Keimgehalte des Darmes aus jeder Drüse zahllose Colonieen erhalten, vor allen Dingen das Bact. coli. Dieses wurde aber niemals beobachtet,[1] obwohl jede entfernte Aehnlichkeit einer Colonie mit Bact. coli zur Weiterzüchtung Veranlassung gab. Die beobachteten Verunreinigungen waren: Subtilis, ein wurzelförmiger Bacillus, verschiedene Luftkokken, ein unbewegliches schlankes und ein auffallend dickes plumpes Stäbchen, eine Hefe, eine Proteusart, Sarcina lutea, Schimmel-Arten.

Von den 29 Kalbsdrüsen wurden 26 steril befunden, bei 3 zeigten sich Verunreinigungen, Heubacillen, das dicke Stäbchen und die Proteusart, wie sie bei den am gleichen Tage verarbeiteten Rindsdrüsen vorkamen. Entsprechend der geringeren Gefahr der Verunreinigungen bei den Kalbsdrüsen sind auch die Resultate günstiger. Die Drüsen wurden nämlich eingeschlossen in die Peritonealblätter befördert, und da bei den Kälbern in der Nachbarschaft der Drüse noch kein Fett abgelagert ist, so fällt auch diese Gefahr der Verunreinigung fort. Ich stehe also nicht

[1] Von jeder Colonie wurden gefärbte Ausstrichpräparate und hängende Tropfen untersucht.



an zu behaupten, dass die Gekröse-Drüsen bei Rindern normaliter keine Bakterien enthalten, d. h., dass von einer Darmdurchwanderung der Bakterien während der Verdauung keine Rede sein kann.[1]

Im selben Sinne sind die Untersuchungen des Chylus, den ich durch Katheterisirung des Ductus thoracicus gewann, ausgefallen. Auf dieses Verfahren musste ich aus äusseren Gründen leider bei Kälbern verzichten, obwohl es sehr wünschenswerth wäre, wegen des Vergleiches mit menschlichen Säuglingen (Darmsepsis!) gerade junge Thiere heranzuziehen.

Dagegen untersuchte ich mit gütiger Unterstützung des Hrn. Privatdocent Dr. Kühnau den Chylus von 5 Hunden und fand denselben auch bei Anwendung anaëroben Cultur-Verfahrens absolut steril, trotzdem die Hunde 3 Stunden vor der Operation gefüttert worden waren. Wegen der grossen Schwierigkeiten, bei jungen und kleinen Thieren den Ductus thoracicus aufzufinden und eine Canüle einbinden zu können, gelang mir diese Operation nur bei einer 3 Wochen alten Ziege. Von dem aus derselben gewonnenen Chylus wurden:

1) 5 Pl. neutrales Agar,

2) 5 Pl. Glycerinagar,

3) 5 Röhren mit Traubenzuckeragar in hoher Schicht

beschickt, und die ersteren bei 22°, die letzteren beiden bei 37° gehalten. Ausser 2 Schimmelcolonieen auf einer der neutralen Agarplatten und 1 Col. Luftkokken auf einer Glycerin-Agarplatte waren sämmtliche Platten und Röhrchen noch nach 3 Tagen völlig steril.

Um die Frage des agonalen Durchganges von Bakterien durch die Darmwand zu studiren, wiederholte ich einen Theil der Versuche von Wurtz und Béco.

Ich vergiftete Kaninchen durch subcutane Application von Natrium arsenicosum und Tartarus stibiatus und Sondenfütterung mit einer 1 proc. Lösung von Cantharidin in Oel.[2]

Die Kaninchen wurden meist sofort nach dem Tode — während des Agons wurde alles vorbereitet — abgezogen, die Pfoten abgeschnitten und das Fell am Kopfe abgetrennt. Der Kopf blieb bei einem Theile der Thiere am Körper, um ein Eindringen von Keimen durch die eröffneten Halsgefässe zu verhüten. Die so vorbereiteten und auf ein Brett aufgespannten Thiere brachte ich in einen anderen Raum, um Verunreini-

[1] Die Schlachtthiere waren am zeitigen Morgen vor dem Schlachten meist noch gefüttert worden, dementsprechend enthielten die meisten Drüsen sehr reichlich Chylus.

[2] Die Lösung ist nicht vollständig, ein Theil des Cantharidins bleibt in Suspension.



gungen durch herumfliegende Haare etc. zu vermeiden. Dort wurde mit dem Paquelin der ganze Thorax und ein Theil des Abdomens abgesengt und mit ausgeglühten und abgekühlten Instrumenten Thorax und Abdomen eröffnet und die Organe herausgenommen. Herz, Blut, Urin und eventuell vorhandene Höhlenflüssigkeiten sog ich mit sterilen Pipetten in möglichst grossen Mengen — meist waren es mehrere Cubikcentimeter — auf, die Gallenblase wurde im Ganzen abgetrennt und erst in einer Petri-Schaale eröffnet. Milz, Nieren und Mesenterialdrüsen wurden stets gänzlich, von der Leber mehrere Cubikcentimeter grosse Stücke vom Rande und aus der Tiefe in zerkleinertem Zustande in die Nährmedien gebracht. Um eine Verunreinigung der zu zweit herausgenommenen Niere zu vermeiden, präparirte ich von der anderen Seite her das Peritoneum von der Wirbelsäule ab und holte sie so extraperitoneal unter den Därmen hinweg, heraus.

Die Resultate sind in der folgenden Tabelle enthalten:

Sectionen von vergifteten Thieren.

1. Kaninchen, 1155 grm, erhält 1 ccm 1 procent. Lösung von Natr. arsenicosum subcutan. Tod nach $3^1/_2$ Stunden.

Sterile Section sofort nach dem Tode. Platten, theils Agar, theils Gelatine, von linker Niere, Milz, Herzblut und Leber nach 3 Tagen bis auf 2 keimfrei. Die beiden Platten zeigten eine oberflächliche porzellanweisse Colonie von Luftkokken bezw. 4 oberflächliche Colonieen von Luftkokken und 1 von Sarcina lutea.

2. Kaninchen, 450 grm, bekommt 0·05 der Lösung von Natr. arsenicosum. Tod nach $3^1/_2$ Tagen.

Sterile Section unmittelbar nach dem Tode. Platten von Galle, Leber, Herzblut, linker Niere, rechter Niere und Urin angelegt. Nach 3 Tagen Platten von Galle, Leber, Herzblut, Urin steril. Ferner 1 Pl. Herzblut 2 oberflächliche Colonieen, rechte Niere (2 Pl.) je 1 oberflächliche Colonie, linke Niere, 1. Pl., 1 oberflächliche Colonie, 2. Pl. 40 Colonieen verschiedener Bakterien, Milz 4 oberflächliche Colonieen.

3. Kaninchen, 485 grm, erhält 0·1 der 1 procent. Lösung subcutan. Tod nach $2^1/_2$ Tagen.

Sterile Section sofort nach dem Tode. 2 Pl. Herzblut, 2 Pl. Leber, 1 Pl. Galle, 1 Pl. Urin, 2 Pl. linke Niere, 1 Pl. rechte Niere, 1 Pl. Mesenterialdrüse steril, 1 Pl. Milz 1 Colonie Heubacillen.

4. Kaninchen, 1030 grm, erhält 0·25 der 1 procent. Natr. arsenicosum-Lösung. Tod nach 2 Tagen.

Sterile Section sofort nach dem Tode. 2 Pl. Blut, 3 Pl. Urin, 1 Pl. Galle, 1 Pl. Leber, 1 Pl. Milz, 1 Pl. rechte Niere steril, 1 Pl. Leber 1 oberflächliche Colonie von Kokken in Tetradenform, 1 Pl. linke Niere 1 oberflächliche Colonie von Kokken in Tetradenform, 1 Pl. Blut 1 Colonie Heubacillen.



5. Kaninchen, 1040 grm, erhält 0·3 ccm 1 procent. Natr. arsenicosum-Lösung. Tod nach 30 Stunden.

Sterile Section sofort nach dem Tode. 2 Pl. Herzblut, 2 Pl. Urin, 2 Pl. rechte Niere, 1 Pl. linke Niere, 1 Pl. Ascites, 1 Pl. Milz, 2 Pl. Mesenterialdrüse, 1 Pl. Leber steril, 1 Pl. Urin 2 oberflächliche Keime (Subtilis), 1 Pl. Leber 1 Colonie Subtilis.

6. Kaninchen, 1935 grm, erhält 5 ccm 1 procent. Tart. stibiatus. Tod nach $2^1/_2$ Tagen.

Section am Morgen nach dem Tode. Das Kaninchen war sofort nach dem Tode kaltgelegt worden und am Morgen steif gefroren. Resultat: 3 Pl. Blut (Herz), 1 Pl. Galle, 3 Pl. Leber, 1 Pl. Milz steril, 3 Pl. Harn, 2 Pl. rechte Niere, 2 Pl. linke Niere, 2 Pl. Mesenterialdrüsen übersät mit Bact. coli-Colonieen.

7. Kaninchen, 1260 grm, bekommt 1·0 ccm 1 procent. Tart. stibiatus-Lösung 2 Mal subcutan an 2 Tagen hinter einander. Tod $2^1/_2$ Tage nach der ersten Injection.

Sterile Section sofort nach dem Tode. 3 Pl. Leber, 2 Pl. rechte Niere, 1 Pl. linke Niere, 1 Pl. Milz, 1 Pl. Ascites, 1 Pl. Mesenterialdrüse, 3 Pl. Blut, 2 Pl. Harn steril; 1 Pl. Galle 1 oberflächliche Colonie Luftkokken, 1 Pl. Harn desgl., 1 Pl. Niere 3 oberflächliche Keime.

8. Kaninchen, 970 grm, bekommt 0·8 ccm der 1 procent. Lösung von Tart. stib. 2 Mal im Zwischenraum von 24 Stunden. Tod 3 Tage nach der ersten Injection.

Sterile Section sofort nach dem Tode. 1 Pl. Urin, 1 Pl. Galle, 1 Pl. Milz, 1 Pl. Mesenterialdrüse, 2 Pl. linke Niere, 1 Pl. rechte Niere, 2 Pl. Leber, 2 Pl. Blut steril; 1 Pl. Urin 2 oberflächliche Colonieen, 1 Pl. rechte Niere 2 oberflächliche Colonieen, 1 Pl. Blut 1 oberflächliche Colonie.

9. Kaninchen, 1100 grm, bekommt 3 ccm 1 Procent Cantharidin nicht ganz in Lösung enthaltenden Olivenöls mit Schlundsonde in den Magen. Tod nach 27 Stunden. Blase leer, Darm schwappend gefüllt und stark injicirt, kein Ascites.

Aseptische Section $1^1/_4$ Stunde post mortem d. 15. II. Resultat: 3 Pl. Blut, 1 Pl. Galle, 2 Pl. Milz, 2 Pl. Leber, 2 Pl. rechte Niere, 1 Pl. linke Niere, 1 Pl. Mesenterialdrüse steril; 1 Pl. Leber (Ag.), 1 Pl. rechte Niere Ag. verunreinigt durch Heubacillen, die Colonie war bei der Platte von der Niere vom Rande ausgegangen. 1 Pl. linke Niere (Gel.) 1 verflüssigende Colonie entfernt vom Organ, 1 Pl. Gelatine von dem Tropfen trüben Blaseninhalts etwa 150 Col. eines unbeweglichen Stäbchens. (Bei der Entnahme war die versehentlich nicht ganz abgekühlte Pincette an eine Darmschlinge angeklebt. Möglich, dass also die hier gefundenen B. aus dem Darm direct stammen.)

10. Kaninchen. Vor Beginn des Versuches 1600, beim Tode 1120 grm, bekommt $1^1/_2$ ccm Cantharidinöl, später noch einmal 3 ccm. Tod nach 5 Tagen am Abend. Sofort in's Kalte gelegt, Temperatur — 1°, am nächsten Morgen secirt. Darm matsch, in Peritoneum und Pleura keine Flüssigkeit, Blase leer. Resultat: 1 Pl. Galle, 2 Pl. rechte Niere, 2 Pl. linke Niere, 3 Pl. Herzblut, 1 Pl. Milz, 3 Pl. Leber, 2 Pl. Mesenterialdrüsen, 1 Pl. Pfortaderblut



steril; 1 Pl. Milz (Agar) 1 Colonie entfernt vom Organ, 1 Pl. Leber 5 Colonieen entfernt vom Organ, 1 Pl. Pfortaderblut 1 Colonie beweglicher, nicht verflüssigender Stäbchen.

Ich bin also nicht in der Lage, die Erfahrungen von Wurtz und Béco, die sie mit denselben Mitteln gemacht haben, zu bestätigen, sondern muss betonen, dass auch vergiftete Thiere, die länger als 24 Stunden nach der Verabreichung des Mittels gelebt haben, für gewöhnlich sterile Organe haben, wenn nur die Section aseptisch und schnell genug gemacht wird. Das einzige Mal, wo sich Bakterien in den Organen fanden, hatte das Thier einige Zeit gelegen und wenn es auch sofort nach dem Tode in eine Umgebung von — 3° Lufttemperatur gebracht wurde und am Morgen steif gefroren war, so muss ich doch, nach dem Befunde bei den anderen Thieren, annehmen, dass es sich hier um eine postmortale Wanderung handelt.

Merkwürdig ist, dass Leber, Galle, Milz und Blut frei von Keimen sind, während die Nieren, Mesenterialdrüsen und der Urin ausserordentlich zahlreiche Bakt. col. enthalten. Eine andere Erklärung als directe Wanderung durch die Darmwände nach den Drüsen, Nieren und der Blase hin ist wohl nicht möglich. Denn falls die Verbreitung auf dem Blutwege erfolgt wäre, müssten Blut und Milz doch auch das Bakt. col. enthalten. Die Gallenwege können hier nicht als Eingangspforte gedient haben. Der Fall ist hervorragend geeignet, zu zeigen, wie schnell das Eindringen von Keimen postmortal erfolgen kann, auch bei niederer Temperatur, und wie weit wir noch davon entfernt sind, eine Erklärung für die Bedingungen, unter denen die Leichenphänomene sich entwickeln, geben zu können. Die Möglichkeit einer schnellen postmortalen Einwanderung der Bakterien in die Organe und die Blutbahn ist auch durch die Versuche Hauser's, Birch-Hirschfeld's, Chvostek's (ich meine die zahlreichen positiven Befunde bei den 12 Stunden nach Tödtung durch Genickstich untersuchten Mäusen) erwiesen, und es ist wohl möglich, dass in Folge der Alteration der Darmwand die Infection des Organismus nach dem Tode wesentlich schneller erfolgt, als Trombetta für seine Versuchsthiere feststellen konnte. Damit wird auch die Erwägung Beco's hinfällig, dass, da nur dann schnell Leichenfäulniss eintreten soll, wenn eine agonale Einwanderung stattgefunden hat, diese ein häufiges Vorkommniss sei. Ich kann also nicht der Béco'schen Behauptung beistimmen, dass es mit Sicherheit (à coup sûr) möglich wäre, die Verbreitung von Mikrobien im Organismus hervorzurufen. Im Gegentheil muss betont werden, dass es weder nach den Litteraturangaben noch nach den hier neu berichteten Versuchen möglich ist, auch nur annähernd ein Urtheil darüber abzugeben, ob es überhaupt vorkommt, dass Bakterien ohne



intensive Verletzung der Darmschleimheit dieselbe während des Lebens zu durchdringen vermögen oder nicht. Alle die positiven Befunde, die thatsächlich z. B. von Achard und Phulpin, Wurtz, Béco, Chvostek und Egger u. A. berichtet werden, sind, wenn wir sie zunächst als einwandsfrei betrachten wollen, durchaus noch nicht beweisend für die Durchgängigkeit des Darmes. Die Seite 9 der Arbeit von Chvostek und Egger angezogenen Bakterienbefunde im Blute nach Injectionen mit Papayotin (Rossbach) und Jequirityextract (Dirking, Holmfeld und Solomonson) haben nicht die mindeste Beweiskraft für eine Infection vom Darme aus, noch viel weniger diejenigen von Wyssokowitsch (115) u. s. w., die sich lediglich damit begnügen, die Möglichkeit einer künstlichen Verminderung der Widerstandsfähigkeit des Organismus festzustellen. Ein Theil der am Menschen positiv ausgefallenen Untersuchungen dürfte mit Sicherheit auf eine terminale Sepsis zurückzuführen sein, z. B. die Fälle von Achard und Phulpin mit Decubitus, Septicämie, Diabetes, eitriger Pyelonephritis, Lungentuberculose, zumal auch sonst zahlreiche Streptokokkenbefunde im Blute von Phthisikern bekannt sind. Dass wir dabei einen häufigeren positiven Befund auch in Leber und Milz erwarten dürfen, ist durch Wyssokowitsch (114) nachgewiesen worden, der zeigte, dass diese Organe eine Ablagerungsstätte für Bakterien ebenso wie für andere corpusculäre Elemente bilden.

Ein anderer Theil findet eine befriedigende Erklärung in der Annahme einer Infection von den Lungen aus, deren Modus von Wyssokowitsch (115), Grammatschnikoff (40) und von Buchner (17) auch in seinem Verhältnisse zur Infection vom Darme aus eingehend besprochen wird. Bei benommenen Kranken werden ja bekanntermassen in den letzten Stunden ausserordentlich häufig Massen aspirirt, die dann eben zu einer Infection des Kreislaufes führen können. Nicht zu vergessen sind auch als mögliche Eingangspforte die Tonsillen. Die Annahme Chvostek's, dass ein Ausgehen der Infection von solchen Stellen nur selten vorkäme, kann ich nicht als genügend begründet ansehen. Im Gegentheil scheinen gerade die Widersprüche zwischen negativen Befunden während des Lebens und postmortalen positiven, die er auf Seite 8 anführt, zu beweisen, dass thatsächlich von anderen erkrankten Körperstellen aus unmittelbar nach dem Tode eine schnelle Ausbreitung von Infectionserregern stattfinden kann. Denn nur so werden die Beobachtungen von Petruschky (78), der in 8 von 14 Fällen von Tuberculose Streptokokken nach dem Tode im Blute fand, während des Lebens nur ein Mal und von Frosch (34) verständlich, der sogar Diphtheriebacillen bei 10 von 14 Fällen im Blute postmortal nachwies, während des Lebens nie.



Ein drittes Moment, welches den Werth der positiven Befunde herabzusetzen geeignet ist, bildet die Thatsache, dass der Tod der verschiedenen Gewebe nicht gleichzeitig erfolgt. Der Oesophagus z. B. ist häufig schon während der letzten Stunden völlig schlaff und todt. Warum soll nicht auch der Darm in manchen Fällen eher dem Tode verfallen, als das Herz? Dass abgestorbene Schleimhaut, wenn sie auch unter dem Mikroskope völlig intact erscheint, der Einwanderung der Bakterien ein Hinderniss entgegensetzte, fällt mir natürlich nicht ein, zu behaupten. Der Nachweis ist allerdings direct nicht zu führen, da es uns auch durch das Mikroskop nicht möglich ist, frisch abgestorbenes Gewebe mit Sicherheit von lebendem zu unterscheiden. Jedem Chirurgen ist ferner die Thatsache bekannt, dass bei eingeklemmten Hernien der Darm noch lebensfrisch aussehen und trotzdem nach der Reposition der Nekrose anheimfallen kann, ein Beweis dafür, wie schwer das Gewebe geschädigt worden ist. Dass unter solchen Umständen eine Durchwanderung von Bakterien stattfinden kann, ist natürlich nicht zu bestreiten und deshalb ist auch der Nachweis von Bakterien in der Darmwand [1] und im Bruchwasser nicht beweisend für eine Durchgängigkeit der Darmwand schon bei geringen Störungen, abgesehen davon, dass auch hier die negativen Berichte erheblich grösseren Werth besitzen als die positiven.

Damit komme ich zu dem letzten Punkte. Denn selbst auf die Gefahr hin, von Béco gleich M. Neisser beschuldigt zu werden, dass unsere Technik noch in den Kinderschuhen stecke, muss ich Versuchsfehler für einen grossen Theil der positiven Befunde verantwortlich machen. Ich stelle mich ganz auf den Standpunkt M. Neisser's und Hauser's, dass bei der Schwierigkeit der Technik und bei den zahlreichen Möglichkeiten der Verunreinigung negative Befunde ein ganz anderes Gewicht haben als positive. Ein sprechender Beweis dafür sind die gegensätzlichen Befunde im Chylus bei Nocard, Porcher und Dósonbry einerseits und M. Neisser und mir andererseits. Von den französischen Autoren wird leider nichts über die Technik angegeben. Da aber das von Heidenhain angegebene Verfahren der Einbindung einer Canüle in den Ductus thoracicus des lebenden Thieres kaum von ihnen benützt sein dürfte, so waren sie jedenfalls auf die in den Gefässen der Bauchhöhle enthaltene Lymphe angewiesen und haben dadurch die positiven Resultate durch Verunreinigungen erhalten. Bei dem solchen Verunreinigungen viel weniger ausgesetzten Verfahren, welches von uns geübt wurde, ergaben sich bei den Thieren in nüchternem Zustande und während der Verdauung nur negative Resultate. Ich glaube, für jeden unbefangenen Beurteiler muss dies den Ausschlag geben.

[1] Boennecken, a. a. O.

Das von Béco angerathene Verfahren, bei der Gefahr einer Verunreinigung die Oberfläche der Niere abzusengen und aus dem Inneren mit der Oese Gewebssaft zu holen, ist uns natürlich auch nicht unbekannt. Es kam uns aber darauf an, das ganze Organ in ein Nährmedium zu übertragen. Denn bei einem negativen Befunde nach Aussaat weniger Oesen Gewebssaft ist natürlich der Einwand sofort bei der Hand, dass spärliche Keime der Entdeckung entgangen sein könnten. Béco stützt ja darauf seine Annahme, dass auch in den Fällen, wo er bei Leichen die Milz steril fand, Bakterien dennoch vorhanden gewesen seien. Das Experiment, ganze Organe oder grosse Organstücke steril herauszunehmen und aufzubewahren, ist auch uns sehr geläufig. Nichtsdestoweniger wird jeder erfahrene Bakteriologe zugeben müssen, dass Verunreinigungen niemals mit ganz absoluter Gewissheit auszuschliessen sind; je complicirter die Versuche sind, um so weniger.

Im Uebrigen behauptet Neisser durchaus nicht, wie Béco annimmt, dass sämmtliche nicht sterile Sectionen nur durch Versuchsfehler zu erklären sind, sondern nur, „soweit nicht Darmperforationen oder andere mechanische Läsionen schwerster Art wirklich eine Passage der Bakterien veranlasst haben“ (S. 24). Dass solche für einen Theil der Fälle wirklich in Betracht kommen, ist klar, denn auch bei den sterilen Sectionen waren schon Hämorrhagieen und Epithelabschürfungen im Darme festzustellen. Nebenbei ist ausdrücklich auf die Möglichkeit andersartiger Infectionen hingewiesen (S. 23).

Die Ausführungen Béco's sind, wie wir gesehen haben, nicht geeignet, die Folgerungen, welche sich aus Neisser's und meinen Untersuchungen ergeben, zu erschüttern und dem Darme eine irgendwie beträchtliche Rolle als Eingangspforte für Infectionen zuzuweisen. Ich muss im Gegentheile betonen, dass die Schutzkraft des Darmepithels in unserer Zeit vielfach unterschätzt wird. Nur für wenige Bakterien ist die Fähigkeit, in die Darmwand und durch dieselbe zu dringen, erwiesen, für die grosse Mehrzahl bildet die Darmwand sogar noch bei starken Alterationen ein unüberwindliches Hinderniss.

Nicht zu vergessen für die Beurtheilung der Durchgängigkeit des Darmes für Bakterien ist eine Thatsache, auf die Pfeiffer und Kolle (79) aufmerksam gemacht haben und die allein geeignet ist, die Anschauung ad absurdum zu führen, dass regelmässig oder auch nur häufiger Darmbakterien durch das Epithel hindurch in den Säftestrom gelangten. Es finden sich im Blute normaler Menschen keine Antikörper der Colibacillen. Dieselben treten aber sofort auf, wenn Abscesse oder andere Erkrankungen vorhanden sind, für die das Bact. coli verantwortlich zu machen ist.

Nicht unwichtig ist ferner die Thatsache, dass von den 41 von Kühnau (60) aufgeführten Typhusfällen nicht ein einziger in seinem Blute Bakterien beherbergt, deren Ursprung im Darme zu suchen wäre. Dabei waren doch zum mindesten bei einem grossen Theile der Fälle Geschwüre im Darme vorhanden, ein weiterer Beweis für den grossen Widerstand, den selbst der geschädigte Darm dem Eindringen von Keimen entgegensetzt.

Die bisher bekannten Befunde sind mit der Annahme einer postmortalen Wanderung oder einer wahren terminalen Infection aus anderen Quellen vollständig erklärt. Auch eine agonale Durchwanderung des Darmes ist nicht mit Sicherheit erwiesen. Mit aller Schärfe ist die Behauptung zurückzuweisen, dass schon geringe functionelle Störungen, wie etwa eine Hyperämie, die Darmwand für Bakterien durchlässig machen könnten.

Schon die tägliche Erfahrung lehrt uns ja auch, dass dies nicht der Fall ist. Jede Laparotomie bewirkt Hyperämieen des Darmes und bei der Reizung des Peritoneums durch in der Bauchhöhle ausgeführte Manipulationen sind auch die übrigen Bedingungen erfüllt, die bei Einwanderung von Mikrobien zu einer Sepsis oder Peritonitis führen müssten (Boennecken). Wir sehen aber, dass septische Erkrankungen nach Laparotomieen jetzt selten geworden sind — etwa 5% — und dass diese Zahl durch immer grössere Vervollkommnung der Asepsis noch mehr herabgedrückt wird. Dies wäre natürlich bei Entstehung der Peritonitis oder Sepsis durch aus dem Darme ausgewanderte Mikroorganismen nicht in dem Grade möglich, wie es thatsächlich der Fall ist.

Litteratur,

die Durchgängigkeit des Darmes betreffend.

1. Achard et Phulpin, Contribution à l'étude de l'envahissement des organes par les microbes pendant l'agonie et après de la mort. *Arch. de méd. expér.* 1895. p. 25.
2. Alapy. Ref. Baumgarten. 1889. S. 510.
3. Arnd, Ueber die Durchgängigkeit der Darmwand eingeklemmter Brüche. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XIII. S. 324.
4. Arnold, *Untersuchungen üb. Staubinhalation u. Staubmetastase.* Leipzig 1885.
5. Auspitz, Ueber die Resorption ungelöster Stoffe bei Säugethieren. *Wiener med. Jahrbücher.* 1871. Bd. III.
6. Barlow und Sittmann, Ueber einen Befund von Bact. coli im lebenden Blute. *Deutsches Archiv für klin. Med.* Bd. LII. Citirt nach Birch-Hirschfeld.
7. Béco, Étude sur la pénétration des microbes intestinaux dans la circulation générale pendant la vie. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1895. p. 199.
8. Derselbe, La perméabilité de la paroi intestinale etc. *Arch. de méd. expér.* 1897. p. 108.

9. Birch-Hirschfeld, Zur Beurtheilung des Bacterium coli commune als Krankheitserreger u. s. w. *Inaug.-Diss.* Leipzig 1896.

10. Bizzozzero, Ueber das constante Vorkommen von Bakterien in den Lymphfollikeln des Kaninchendarmes. *Centralblatt für med. Wissenschaften.* 1885. S. 801. Ref. Baumgarten. 1885. S. 165.

11. Boennecken, Virchow's *Archiv.* Bd. CXX.

12. Bosc, Les lésions de l'intestin etc. *Troisième Congrès Française de méd. int.* 1896. Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XX. S. 687.

13. Bosc et Blanc, Les lésions de l'intestin dans les cas de hernie étrangée et d'engonement. *Arch. de méd. expér.* 1896. p. 723.

14. Bouchard, *Revue de méd. expér.*

15. Braunschweig, Ueber Allgemeininfection von der unverletzten Bindehaut aus. *Fortschritte der Medicin.* 1889. Ref. Baumgarten. 1889. S. 514.

16. Brentano, Ergebnisse bakteriol. Bruchwasser-Untersuchungen. *Deutsche Zeitschrift für Chirurgie.* Bd. XLIII. — *Centralblatt für Chirurgie.* 1896. S. 823.

17. Buchner, Untersuchungen über den Durchtritt von Infectionserregern durch die intacte Lungenoberfläche. *Archiv für Hygiene.* Bd. VIII.

18. Derselbe, Beiträge zur Kenntniss des Neapeler Cholerabacillus. *Ebenda.* Bd. III. S. 361.

19. Charrin, *Compt. rend. de la Soc. biol.* 1892. p. 995. Citirt nach Chvostek und Egger.

20. Charrin et Veillon. *Ebenda.* 1893. p. 1057. Ref. Baumgarten. 1894. S. 76.

21. Dieselben. *Ebenda.* 1894. Citirt nach Béco.

22. Chvostek, Ueber die Verwerthbarkeit postmortaler bakteriologischer Befunde. *Wiener klin. Wochenschrift.* 1896. Nr. 49.

23. Chvostek und Egger, Ueber die Invasion von Mikroorganismen in die Blutbahn während der Agone. *Ebenda.* 1897. Nr. 3.

24. Cornil. Citirt bei Lesage et Macaigne.

25. Czerny u. Moser, Klinische Beobachtungen an magendarmkranken Kindern im Säuglingsalter. *Jahrbuch für Kinderheilkunde.* Bd. XXXVIII.

26. Dallemagne, Contribution à l'étude des microbes du tube digestif des cadavres. *Académie de méd. de Belgique.* 1894. Citirt nach Béco.

27. Derselbe, Microbes du tube gastrointestinal des cadavres. *Arch. de méd. expér.* 1895. p. 274. Ref. Baumgarten. 1895. S. 603.

28. Desoubry et Porcher, De la présence de microbes dans le chyle normal du chien. *Compt. rend. Soc. biol.* 1895. Ref. Baumgarten. 1895. S. 605.

29. Emmerich, Untersuchungen über die Pilze der Cholera asiatica. *Archiv für Hygiene.* Bd. III. S. 361 ff.

30. Falk, Ueber d. Verhalten d. Infectionsstoffe im Verdauungscanal. Virchow's *Archiv.* Bd. CVIII.

31. Fischl, Ueber septische Infection des Säuglings. *Zeitschrift f. Heilkunde.* 1894. Ref. *Centralblatt.* Bd. XV. S. 765.

32. v. Fodor, Ueber Bakterien im Blute des gesunden Thieres. Baumgarten. 1885. S. 168.

33. Derselbe, Bakterien im Blute lebender Thiere. *Archiv für Hygiene.* IV. Ref. Baumgarten. 1886. S. 375.

34. Frosch, *Diese Zeitschrift.* Bd. VIII.

35. Garré, *Fortschritte der Medicin.* 1886. Bd. IV. Ref. Baumgarten 1886. S. 385.



36. **Garré**, Zur Aetiologie acut-eitriger Entzündungen. *Fortschritte der Medicin.* 1885. Nr. 6. Ref. **Baumgarten**. 1885. S. 26.

37. **Gaston et Renard**, *Rev. mens. des malad. de l'enfauce.* 1893. T. XI.

38. **Gilbert et Lion**, Contrib. à l'étude des bactéries intest. *Sem. méd.* 1893. Ref. **Baumgarten**. 1893. S. 291.

39. **Gilbert et Fournier**, Du rôle des microbes dans la génèse des calculs biliaires. *Sem. méd.* 1896. S. 61. — *Hygienische Rundschau.* 1896. S. 361.

40. **Grammatschnikoff**, *Fortschritte der Med.* 1893. Cit. nach **Chvostek**.

41. **Hanot**, *Ictère grave hypothermique.* Ref. **Baumgarten**. 1883. S. 166.

42. **Hauser**, Ueber das Vorkommen von Mikroorganismen im lebenden Gewebe gesunder Thiere. *Archiv f. experimentelle Pathologie.* Bd. XX. Ref. **Baumgarten**. 1885. S. 166.

43. **Derselbe**, Bakterienbefunde bei Leichen. *Zeitschrift. für Heilkunde.* Bd. XVIII. S. 421.

44. **Heubner**, *Zeitschrift für klin. Medicin.* Bd. XXIX.

45. **Hildebrand**, Experimentelle Untersuchungen über das Eindringen pathogener Mikroorganismen von den Luftwegen und der Lunge aus. *Beiträge zur pathol. Anatomie und Physiologie.* Bd. II. S. 411. Ref. *Jahrb. für die gesammte Medicin.* 1889. Bd. I. S. 266.

46. **Hirsch**, Ein Fall von Streptokokken-Enteritis im Säuglingsalter. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXII. S. 369.

47. **Hueppe**, *Naturwissenschaftl. Einführung in die Bakteriologie.* Wiesbaden 1896. Citirt nach **Chvostek** und **Egger**.

48. **Israël**, *Klinische Beiträge zur Aktinomykose des Menschen.* Berlin 1885. Ref. **Baumgarten**. 1885. S. 137.

48a. **Kaensche**, *Diese Zeitschrift.* Bd. XXII. S. 53.

49. **Kamen**, Zur Frage der Tetanusformen nicht traumatischen Ursprunges. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XVIII. S. 513.

50. **Karlińsky**, Ein Beitrag zur Frage der Puerperalinfection des Neugeborenen. Ref. *Ebenda.* Bd. VI.

51. **Karlinski**, Eine seltene Darmtyphus-Complication. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1888. Nr. 43. Ref. **Baumgarten**. 1888. S. 149.

52. **Kaufmann**, berichtet über **Porcher** et **Desoubry**. *Sem. méd.* 1896.

53. **v. Klecki**, Recherches sur la pathogénie de la peritonite d'origine intestinale. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1895. Ref. **Baumgarten**. 1895. S. 306.

54. **Klemm**, Studien über die pathol.-anatom. Veränderungen am Darm in Folge von Brucheinklemmung. *Inaug.-Diss.* Dorpat 1889. Cit. nach **Neisser**.

55. **Kocher**, Die acute Osteomyelitis mit besonderer Berücksichtigung ihrer Ursachen. *Deutsche Zeitschrift für Chirurgie.* Bd. XI. Cit. nach **Neisser**.

56. **Kocher und Tavel**, *Vorlesungen über chirurg. Infectionskrankheiten.* Basel-Leipzig 1895. Ref. **Baumgarten**. 1895. S. 13.

57. **A. P. Korkunoff**, Zur Frage von der intestinalen Infection. *Archiv für Hygiene.* Bd. X. S. 485.

58. **Kraft**. Ref. *Centralblatt für Chirurgie.* 1892.

59. **Kruse** in **Flügge**, *Die Mikroorganismen.* I. S. 316.

60. **Kühnau**, Ueber Resultate und Leistungsfähigkeit der bakteriol. Blutuntersuchung. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXV. S. 492.

61. **Lesage et Mecaigne**, Contribution à l'étude de la virulence du Bact. coli. *Archiv de méd. expér.* 1892. p. 350.



62. Létienne, Recherches bactériologiques sur la bile humaine. *Archiv de méd. expér.* 1891. p. 761.

63. Libman, Weitere Mittheilungen zur Streptokokken-Enteritis im Säuglingsalter. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXII. S. 376.

64. Lion et Marfan, Deux cas etc. Ref. *Ebenda.* Bd. XII. S. 336.

65. Macklezew, Zur Frage der Durchgängigkeit der Darmwand für Bakterien bei Darmverschluss. *Wratsch.* 1897. Nr. 10. Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXI. S. 939.

66. Malvoz, Le bact. coli comm. etc. *Arch. de méd. expér.* T. III. Nr. 5.

67. Derselbe, La putréfaction. Scalpel 1895. Cit. nach Béco.

68. Derselbe, Recherches bactér. de la fièvre typhoide. Liège 1893. Cit. nach Chvostek u. Egger.

69. Manfredi. Ref. Baumgarten. 1886. S. 376.

70. Marfan et Lion, *Compt. rend. Soc. biol.* 1891. Ref. Baumgarten. 1891. S. 280.

71. Marfan et Marot, *Rev. mens. des malad. de l'enf.* 1893. Citirt nach Neisser.

72. M. Neisser, Ueber die Durchgängigkeit der Darmwand für Bakterien. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXII. S. 12.

73. Nepveu. Ref. *Fortschritte der Medicin.* Bd. I. S. 642. Cit. bei Garré.

74. Nocard, Influence des repas sur la pénétration des microbes dans le sang. *Sem. méd.* 1895. p. 63.

75. Oker-Blom, Beitrag zur Kenntniss des Eindringens des Bacterium coli in die Darmwand bei pathol. Zuständen. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XV.

76. Orloff, Materiale zur Frage über die Eintrittswege der Mikroben in den thierischen Organismus. Baumgarten 1887.

77. Pawlowsky, Virchow's *Archiv.* Bd. CXVII. S. 469. Ref. Baumgarten. 1887. S. 389.

78. Petruschky, *Deutsche med. Wochenschr.* 1893. Nr. 14. Cit. n. Chvostek.

79. Pfeiffer u. Kolle, *Diese Zeitschrift.* Bd. XXI. S. 235.

80. Ponfick, Ueber die Entstehungs- und Verbreitungswege der acuten Miliartuberculose. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1887. Cit. nach Neisser.

81. Porcher et Desoubry, De la présence des microbes dans le sang de la circulation générale chez le chien. *Compt. rend. Soc. biol.* 1895. Cit. nach Béco.

82. Posner, Infection und Selbstinfection. *Berliner Klinik.* H. 85. Cit. nach Neisser.

83. Posner und Lewin, Ueber kryptogenetische Entzündungen namentlich der Harnorgane. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1895.

84. Rénon, Passage du mycèle de l'Aspergillus etc. *Sem. méd.* 1896. Nr. 26. — *Centralblatt für Bakteriologie.* 1896.

85. Ribbert, Ueber das Vorkommen von Spaltpilzen in der normalen Darmwand des Kaninchens. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1885. Ref. Baumgarten. 1885. S. 165.

86. Ritter, Ueber die Durchgängigkeit der Darmwand. *Inaug.-Diss.* Göttingen 1890. Cit. nach Neisser.

87. Roosing, Zur Frage, ob sich die Mikroorganismen hauptsächlich im Bruchwasser vorfinden. *Centralblatt für Chirurgie.* 1892. S. 649. Cit. nach Neisser.

88. Rossbach, *Centralblatt für die med. Wissenschaften.* 1882. Cit. b. Hauser.

89. Roth, Ueber das Verhalten der Schleimhäute u. s. w. *Diese Zeitschrift.* Bd. IV.



90. Salomonson und Dircking-Holmfeld, *Fortschritte der Medicin.* II. Cit. nach Chvostek-Egger.

91. Sauchez, Toledo et Veillon, De la présence du bac. de tétanos etc. *Sem. méd.* T. X. Ref. Baumgarten. 1891. S. 218.

92. Sevestre, *Sitzungsberichte des Soc. méd. des hôpitaux.* Paris 1887. Cit. nach Neisser.

93. Schloffer, Bakteriologische Bruchwasseruntersuchungen u. s. w. *Beiträge zur klin. Chirurgie.* 1895. Bd. XIV. Ref. Baumgarten. 1895. S. 71.

94. Schnitzler, *Chir. bakteriol. Mittheilungen.* Ref. *Centralblatt f. Bakteriologie.* Bd. XV. S. 667.

95. Sordoillet, Péritonide sans perforation. Ref. *Ebenda.* Bd. XVI.

96. Sruday et Bodin, Infection colibacillaire généralisée au cours de la grippe. *Sem. méd.* 1895. Nr. 26. — *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XVIII. S. 132.

97. Stern, Klin. bakteriol. Beiträge zur Pathologie u. Therapie des Abdominaltyphus. *Sammlung klin. Vorträge.* Neue Folge. Nr. 138. Ref. Baumgarten. 1895. S. 290.

98. Tavel u. Lanz, Ueber die Aetiologie der Peritonitis. *Mittheilungen aus Kliniken und med. Instituten der Schweiz.* 1893. Cit. nach Neisser.

99. Teissier, Contribution à l'étude du tetragène. *Arch. de méd. expér.* 1896. p. 14.

100. Thiemich, *Inaug.-Diss.* Breslau 1894. Ref. Baumgarten. 1894. S. 266.

101. Tietze, Klinische und experimentelle Beiträge zur Lehre von der Darmincarceration. *Habilitationsschrift.* Breslau 1894. Cit. nach Neisser.

102. Trombetta, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1891. Bd. X. S. 664.

103. Veillon et Jayle, *Compt. rend. de Soc. biol.* 1891. Ref. Baumgarten. 1891. S. 292.

104. Wasmuth, Ueber die Durchgängigkeit der Haut für Mikrobien. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XII. S. 824 u. 846.

105. Wassilieff-Kleimann, Ueber Resorption körniger Substanzen von Seiten der Darmfollikel. *Archiv für exper. Pathologie.* Bd. XXVII. Cit. nach Neisser.

106. Weintraud, Untersuchungen über Kohlenstaub-Metastasen. *Inaug.-Diss.* Strassburg 1889. Cit. nach Neisser.

107. Welch, Conditions underly in the infection etc. *Americ. Journ. of the med. sc.* 1891. Ref. Baumgarten. 1891. S. 43.

108. Wreden, Zur Aetiologie der Cystitis. *Centralblatt für Chirurgie.* 1893. Ref. Baumgarten. 1893. S. 314.

109. Wurtz et Herman, De la présence fréquente du bact. coli dans les cadavres. *Arch. de méd. expér.* 1891. S. 753.

110. Wurtz, *Compt. rend. Soc. biol.* 1892. p. 992 u. 1011. Cit. nach Béco.

111. Derselbe, Le coli bacille. *Arch. de méd. expér.* 1893.

112. Wurtz et Hudélo, De la pénétration des bactéries intestinales dans le péritoine et dans le rang pendant l'intoxication alcoolique. *Sem. méd.* 1895. Nr. 6. — *Hygienische Rundschau.* 1895. S. 601.

113. Welch, s. oben 107.

114. Wyssokowitsch, Ueber die Schicksale der in's Blut injicirten Mikroorganismen im Körper der Warmblüter. *Diese Zeitschrift.* Bd. I. S. 1.

115. Derselbe, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1889. S. 413.

116. Zabor, Untersuchungen über das Vorkommen von Spaltpilzen im normalen Thierkörper. Ref. Baumgarten. 1887.

117. Ziegler, *Lehrbuch der pathol. Anatomie.* Jena 1892.
118. Derselbe, Untersuchungen über die intestinale Form der Peritonitis. München 1893. Ref. Baumgarten. 1893. S. 619.
119. Zweifel, Giebt es im gesunden Organismus Fäulnisskeime? Ref. Baumgarten. 1885. S. 167.

II. Durchgängigkeit der Niere.

In innigem Zusammenhange mit der Frage der Durchgängigkeit des Darmes für die Bakterien steht diejenige nach der Ausscheidung im Blute befindlicher Bakterien durch drüsige Organe. Nimmt man, wie es in letzter Zeit häufig geschehen ist, an, dass ein Uebertritt von Darmbakterien in die Körpersäfte häufig vorkommt, so ergiebt sich daraus die Forderung, die Wege zu erforschen, auf denen sie den Körper wieder verlassen. In der That haben sich denn auch die Stimmen gemehrt, die im Gegensatz zu der besonders von Wyssokowitsch begründeten und noch heute von Vielen festgehaltenen Ansicht behaupten, dass die Ausscheidung von Bakterien in Harn, Galle und Schweiss durchaus nichts Seltenes sei, sondern sogar auf einer physiologischen Thätigkeit der Excretionsorgane beruhe.

Betrachten wir uns die Verhältnisse einmal genauer. Von vornherein lässt sich nicht annehmen, dass im Speichel und Schleim Bakterien ausgeschieden werden sollten. Viel eher könnte dies erwartet werden vom Urin, ferner auch von Galle und Schweiss, von denen die beiden letzteren wenigstens theilweise Auswurfstoffe, Excrete, darstellen; vielleicht könnte auch eine Abscheidung nach dem Darme vorausgesetzt werden.

Rufen wir uns zur Klärung der Sachlage den Vorgang der Secretion, bezw. Excretion zurück. Nach den feststehenden Lehren der Physiologie handelt es sich bei der Secretion darum, dass aus dem Blute durch die specifische Thätigkeit der Drüsenepithelien bestimmte Stoffe aus dem Gesammtblute aufgenommen und meist nach chemischer Umwandlung als die wirksamen Bestandtheile der betreffenden Drüsen in das Innere derselben abgeschieden werden. Dabei muss man das Vorhandensein chemischer Affinitäten zwischen den Drüsenepithelien und den betreffenden chemischen Körpern voraussetzen. Die Möglichkeit, dass solche chemische Affinitäten auch eventuell zu giftigen Körpern, die in das Blut gelangt sind, einmal statthaben und dass dieselben also auch einmal in den Secreten wieder erscheinen können, ist ohne Weiteres zuzugeben. Man wird aber dann eben nicht mehr von physiologischer Ausscheidung sprechen können, da ja dann von „Secretion“ dem Wesen nach füglich nicht mehr die Rede sein kann, sondern nur von einem pathologischen Vorgange.



Insofern nicht ganz besondere chemische Verhältnisse vorliegen, werden die Epithelien der Secretionsorgane überhaupt nicht mit in die Blutbahn gebrachten giftigen Stoffen oder gar mit geformten Elementen, wie sie die Bakterien darstellen, in Berührung kommen, geschweige denn eine physiologische Excretion derselben bewirken. Nur unter exquisit pathologischen Bedingungen, d. h. wenn etwa durch den Diffusionsstrom die Drüsenzellen vergiftet würden, könnten in Secreten Gifte oder gar Bakterien erscheinen, indem sie durch die oder zwischen den widerstandsunfähig gewordenen Zellen hindurch wandern.

Wesentlich anders liegen die Verhältnisse in den Excretionsorganen. Dieselben sind bestimmt, unter normalen Verhältnissen die für den Körper überflüssigen und schädlichen Stoffe aus demselben zu entfernen. Damit dies möglich ist, müssen natürlich die Drüsenepithelien mit der Gesammtmenge der Blutflüssigkeit in Berührung kommen, und ihre Aufgabe besteht darin, aus dieser Gesammtmenge die vorgebildeten Auswurfstoffe zurückzuhalten und sie auf die innere Oberfläche abzuscheiden. Hier ist also die Möglichkeit einer physiologischen Excretion chemischer Körper und eventuell auch geformter Elemente zuzugeben. Wenn dieselbe den Namen einer „physiologischen Ausscheidung“ in Wahrheit verdienen soll, müssen demnach verschiedene Bedingungen erfüllt sein. Die normalen Nieren müssen, entsprechend dem Vorgange bei der Harnstoff- u. s. w. Ausscheidung, in's Blut gelangte körperliche Elemente oder Bakterien in einer Weise aus dem Kreislauf entfernen, die sich — natürlich innerhalb gewisser Grenzen — für dieselbe Thierart und dieselben Körper in bestimmtem Typus regelmässig wiederholt. Die einmal begonnene Ausscheidung müsste andauern, bis die im Blute kreisenden Elemente auf eine Zahl herabgemindert wären, die, wenn ursprünglich vorhanden, die Secretion nicht anregen kann. Anderenfalls müsste man ja annehmen, dass eine Schädigung der Auscheidungsorgane entstanden wäre, die eine weitere secretorische Thätigkeit verhinderte, dass es sich also nicht um einen „physiologischen“ Vorgang gehandelt haben könnte. Zu einer physiologischen Function gehört implicite ein gewisser Zweck, und dieser kann hier nur darin bestehen, den Körper von fremden, eventuell schädlichen Elementen zu befreien. Daher wird auch auf das zeitliche Element ein gewisser Werth zu legen sein; indessen könnte man annehmen, dass die Ausscheidungsorgane einer gewissen Zeit bedürften, um sich an die ungewöhnliche Aufgabe der Ausscheidung körperlicher Elemente zu gewöhnen. Auch die Menge der ausgeschiedenen Bakterien ist ohne Zweifel von Belang. Denn man wird erwarten dürfen, dass nach Analogie der von den Nieren ausgeschiedenen gelösten Stoffe sich die Bakterien im Harne in grösserer Concentration finden, als im Blute, ein Umstand, auf den auch

Wyssokowitsch (75) schon hingewiesen hat. In geringeren Mengen wird man einen mehr zufälligen Befund sehen dürfen. Wir müssen verlangen, dass bei einer vermehrten Diurese auch die Zahl der ausgeschiedenen Keime sich vermehrt, wenn die Ausscheidung der Bakterien physiologisch, d. h. entsprechend der normalen Thätigkeit der Niere erfolgen soll.

Soweit die obigen Ausführungen die Secretionsorgane, Speichel- und Schleimdrüsen und Pankreas betreffen, sind sie durch die Untersuchungen von Biedl und Kraus (3, 4, 5) unter Widerlegung der früheren Mittheilungen von Brunner (8 u. 9) u. A. experimentell als zu Recht bestehend erwiesen worden.

Die Milchdrüsen möchte ich, da hier die Verhältnisse in Folge der regelmässigen Anwesenheit der verschiedenartigsten Bakterien in den Milchgängen besonders verwickelt sind, von der Besprechung ausscheiden.

Was den Schweiss anlangt, so liegen zahlreiche Beobachtungen vor, die die Ausscheidung von Bakterien in demselben unter pathologischen Verhältnissen erweisen. Für eine Ausscheidung unter physiologischen Verhältnissen können die wenigen Versuche Brunner's (8), der im Schweisse der Katzenpfote einen Milzbrandbacillus fand und in demjenigen am Schweinsrüssel Prodigiosus, welche Keime vorher in die Blutbahn injicirt worden waren, nichts beweisen, um so weniger, als für den letzteren Versuch wenigstens dasselbe gilt, was gegen desselben Autors Versuche mit Speichel von Biedl und Kraus geltend gemacht wird. Diese glauben nämlich, dass nicht der Schweiss, bezw. Speichel die Bakterien enthalten hätte, sondern dass Blutungen aus kleinen Fissuren zu Täuschungen die Veranlassung gewesen wären. Brunner (9) selbst ist übrigens in einer späteren referirenden Arbeit der Ansicht, dass, bevor es zu einer Ausscheidung kommt, Gefässwände und Epithelien durchlässiger werden müssen, als es unter normalen Verhältnissen der Fall ist.

Eine Nachprüfung war mir wegen der Schwierigkeit, geeignete Thiere zu erlangen, nicht möglich. Als geeignet sind auch wohl nur Thiere zu bezeichnen, die, wie das Pferd, an der ganzen Hautoberfläche Schweissdrüsen besitzen, nicht solche, die, wie Schwein und Katze, nur am Rüssel, bezw. der Pfote Schweiss secerniren. Bei der Unzuverlässigkeit unserer Methoden der Hautdesinfection sind Befunde im menschlichen Schweiss ganz ohne Bedeutung für unser Thema, ganz abgesehen davon, dass für gewöhnlich unser Blut keimfrei ist und eine Injection von leicht nachzuweisenden Mikroben sich von selbst verbietet.

Die Ausscheidung von Bakterien mit der Galle soll gleichfalls von der folgenden Besprechung ausgeschlossen bleiben, weil bei den verwickelten, verschiedenartigen und noch vielfach dunklen Functionen, die der Leber



obliegen, Schlüsse aus beobachteten Erscheinungen nur einen sehr beschränkten Werth haben können.

Wesentlich einfacher liegen die Verhältnisse bei der Niere.

Um unnütze Wiederholungen zu vermeiden, verweise ich bezüglich der Litteratur auf die Arbeiten von Wyssokowitsch, Biedl und Kraus und v. Klecki.

Ich möchte hier nur kurz die Resultate anführen, die Wyssokowitsch bei seinen zahlreichen, an Kaninchen und Hunden mit den verschiedensten Bakterien angestellten Versuchen erhielt. Er kommt zu dem Schlusse, dass niemals eine physiologische Ausscheidung von in die Blutbahn injicirten Bakterien stattfindet, sondern dass erst Veränderungen in den Nieren eingetreten sein müssen, wenn Bakterien im Harn erscheinen sollen. Diesen Untersuchungen ist von Orth (49), Biedl und Kraus u. A. der Vorwurf gemacht worden, dass die negativen Resultate zum grössten Theile auf der ungenügenden Methode der Harngewinnung aus der Blase post mortem beruhen. Spärlich vorhandene Keime könnten der Feststellung entgangen sein. Wie weit der Einwand berechtigt ist, ergiebt sich aus den gleich zu erwähnenden Versuchen von Biedl und Kraus; ich glaube, dass wenigstens ein Theil der negativen Befunde so erklärt werden muss.

In der Litteratur, die Biedl und Kraus anführen, finden sich die verschiedensten Ansichten über Art und Bedingungen einer Bakterienausscheidung durch die Nieren. Biedl und Kraus haben deshalb selbst in einer Reihe von neun Versuchen an Hunden, denen die Ureteren katheterisirt wurden, und an 17 Kaninchen, deren Harn continuirlich und nach dem Tode aus der Blase entnommen wurde, diese Verhältnisse von Neuem studirt. Aus den Protocollen ergiebt sich, dass in der That schon nach 5 Minuten der Staphylococcus pyogenes aureus aus dem Blute in den Harn übergehen kann, und dass die Methode des Urinauffangens aus den Ureteren wesentlich genauere Resultate giebt, als das Entnehmen des Harnes aus der Blase. Indessen waren die Thiere, bei denen der Harn continuirlich gewonnen wurde, chloroformirt, die anderen nicht. Ein nur nebenher erwähnter Fall bewies auch den Uebergang von Anilinblaukörnchen in den Harn kurze Zeit nach intravenöser Injection. In den Versuchen wurden die Hunde chloroformirt oder curarisirt, ebenso die Kaninchen, bei denen der Harn entweder aus den Ureteren oder der Blase continuirlich aufgefangen wurde. Zur Injection dienten einige Cubikcentimeter einer mehrtägigen Bouilloncultur von Staphylococcus pyogenes aureus; die Diurese wurde meist durch Kochsalz- oder Traubenzuckerinfusionen angeregt.

In einer neuen Arbeit (5) über denselben Gegenstand, die auch noch die Ausscheidung von Bakterien durch andere drüsige Organe in den Bereich der Betrachtung zieht, referieren die Autoren ausführlich über Arbeiten von F. J. Cotton (18) und v. Klecki (53) und sehen in denselben eine Bestätigung ihrer eigenen Befunde. Sie kommen zu dem Schlusse, dass

„1. die normale unveränderte Gefässwand von im Blute kreisenden Mikroorganismen auf dem Wege der Diapedese passirt werden kann;

2. dass auch das intacte Gewebe der Passage kein Hinderniss entgegenstellt, dass aber

3. die Elimination der Mikroorganismen dennoch im Wesentlichen an den Bau und die specifische Leistung der betreffenden Drüsen geknüpft ist.

In diesem Sinne ist das Erscheinen der Mikroorganismen in den Drüsensecreten als wirkliche physiologische Ausscheidung zu betrachten.

Drüsige Organe, bei denen das Vorkommen einer solchen Ausscheidung nachgewiesen wurde, sind Niere und Leber.“

Die Versuche von Biedl und Kraus können aber für eine physiologische Secretion überhaupt nicht herangezogen werden, da sie unter gänzlich unphysiologischen Bedingungen stattfanden. Man bedenke nur, welche ungeheure Zumuthung an den Körper eine schnelle Vermehrung der Blutmenge auf das $1^1/_2$fache durch Traubenzuckerlösungen bedeutet und dass Chloroform und Aether die Nieren schwer zu schädigen im Stande sind. Selbst physiologische Kochsalzlösung ist durchaus nicht so sicher unschädlich für die Nieren.[1]

Etwas beweisen für die physiologische Ausscheidung von Bakterien durch die Nieren könnten aber die Versuche v. Klecki's,[2] in denen zum Theil ohne Anwendung von Narcoticis und Diureticis unter Controle des Blutdruckes und der Herzthätigkeit der Harn untersucht wurde. Er verwandte in seinen, nach einer ausserordentlich genauen Methode angestellten Versuchen Hunde, denen 0·1 bis 0·15 einer mehrtägigen Pyocyaneuscultur injicirt wurde. Auch bei verhältnissmässig so geringen Mengen von Bakterien und bei spontaner Harnabsonderung erschienen schon nach kurzer Zeit (3 bis 18 Minuten) die injicirten Mikrobien im Harn. Der Verfasser folgert daraus in Uebereinstimmung mit Biedl und Kraus, dass die normale Niere für Bakterien durchgängig sei.

Die Arbeit von Cotton (18) war mir leider nicht im Original zugänglich, ich muss daher auf das Referat von Biedl und Kraus zurück-

[1] Vgl. Sauer (64).

[2] *Archiv für exper. Pathologie.* 1897. Bd. XXXIX. Hft. 3.



greifen. Die sämmtlich an Kaninchen ausgeführten Versuche mit intravenöser Injection von Anthrax, Bacillus subtilis, Pneumococcus, Staphylokokken, Prodigiosus und Friedländer's Pneumobacillus ergaben sehr wechselnde Resultate bezüglich der Zeit und Menge der in Galle und Harn ausgeschiedenen Bakterien und der histologischen Befunde in den Organen. Die Secrete wurden erst nach Tödtung der Thiere untersucht. Cotton legt Gewicht auf die Menge der ausgeschiedenen Bakterien für die Beurtheilung des Physiologischen an der Ausscheidung und kommt zu dem Ergebnisse, dass grössere Bakterienmengen im Harne scheinbar immer nur pathologisch vorkommen; die Grenzen der angeblichen physiologischen Ausscheidung sind keineswegs festgestellt.

Ich selbst habe zur weiteren Klärung der Frage sieben Versuche an Hunden ausgeführt, deren Protocolle hier folgen:

Versuchsprotocolle.[1]

Versuch 1.

Hund, 8200 ^{grm}. 0·04 Morfin subcutan. Während der Dauer der Operation Chloroformnarkose. Aufschwemmung stammt von 5 schrägen Agar-Oberflächen mit Vibrio Finkler-Prior, 21 Stunden bei 37° gehalten. Zahl der eingeführten Bakterien $8^1/_2$ Billionen.

Zeit		R. Niere	L. Niere	Bemerkungen
$12^h 50$—1^h	Infusion von 60 ^{ccm} physiol. Kochsalzlösung in die linke Vena jugularis			Etwaige, übrigens **sehr selten** beobachtete Verunreinigungen, die nie mehr als 6 Keime auf 1 Platte ausmachten, sind hier, wie bei den später. Versuchen nicht besonders angeführt. Urin klar.
1^h	Einführen der Canülen in die Ureteren			
$1^h 10$—$1^h 50$	Allmähl. Infusion der Bakt.-aufschwemmung in 0·6 proc. Kochsalzlösung (70 ^{ccm})	bis 1^h 40 keine Urinsecretion	keine Urinsecretion	
1^h 40	Beginn der Urinsecretion			
$1^h 40$—$1^h 45$	5 Tropfen klarer Urin	0		
$1^h 45$—$1^h 50$	desgl.	0		
$1^h 50$—$1^h 55$	$^1/_2$ ^{ccm} desgl.	0		
$1^h 55$—2^h	desgl.	0		
2^h—$2^h 5$	$1^1/_2$ ^{ccm} Urin röthlich	zahlr. Keime, Gelatineplatte verflüssigt		
$2^h 5$—$2^h 10$		200 Colonieen		
$2^h 10$—$2^h 15$	Etwa 2 ^{ccm}. Urin klar	28 „		

[1] Hr. Prof. Dr. Hürthle war so gütig, mir die Technik zu zeigen und mir die Mittel des physiologischen Institutes zur Verfügung zu stellen, wofür ich ihm auch an dieser Stelle meinen ergebensten Dank sage.



Zeit		R. Niere	L. Niere	Bemerkungen
$2^h 15 — 2^h 30$	9 ccm Urin zur mikrosk. und chem. Unters. aufgefangen			Im Sediment keine Blutkörperchen, Eiweiss positiv.
$2^h 30 — 2^h 35$	2 ccm Urin, trüb	Platte ganz verflüssigt		
$2^h 35 — 2^h 40$	2 ccm Urin	desgl.		
$2^h 40$	Tödten des Hundes. Blutentnahme aus dem Herzblut. Aus demselben nach 3 Tagen zahlreiche Colonieen Finkler-Prior ausgewachsen.			

In den aus den Nieren angefertigten Schnitten colossale Hyperämie, besonders der Glomeruli, einzelne Hämorrhagieen. Im Gewebe der Niere keine Bakterien zu sehen bis auf ein einziges Präparat, in dem 2 Vibrionen in der Zwischensubstanz der Epithelien eines gewundenen Canälchens liegen. In den Epithelien der Tubuli contorti stellenweise reichliche gelbe Pigmentschollen.

Versuch 2.

Hund, Gew. 5900 grm. 0·03 Morfin subcutan. Chloroformäther während der Operation. Sechs während 20 Stunden bei 22° gehaltene schräge Agaroberflächen von Bac. prodigiosus mit 50 ccm physiolog. Kochsalzlösung abgeschwemmt und zur Infusion verwandt. Dieselben enthalten 2·9 Billionen Keime. Hund lag auf erwärmtem Tische.

Zeit		R. Niere	Bemerkungen
$11^h 55$	Einführen der Katheter. Bis zum	0 Colonieen	Von der linken Niere wurde während der ganzen Dauer des Versuches kein Urin secernirt.
$12^h 5 — 12^h 55$	Beginn der Infusion 1 Tropfen, l. kein Urin. Ganz allmähliche Infusion der Aufschwemmung.		
$12^h 5 — 12^h 10$	In 5 Min. immer nur je 1 Tropf. klaren Urins erhalten.		
$12^h 10 — 12^h 15$			
$12^h 15 — 12^h 20$			
$12^h 20 — 12^h 25$			
$12^h 25 — 12^h 30$			
u. s. w.			
$1^h 5 — 1^h 30$	Infusion von 200 ccm 5 procentig. Traubenzuckerlösung. Ohne Erfolg für die Urinsecretion.		Nach 2 Stunden Versuch beendet. Im r. Katheter 5 Tropfen stark blutig. Urins, der zahlr. Prodigiosuskeime enthält. Im l. Katheter 2 Tropfen, enthaltend 16 Keime Prodigiosus. Blut enthält sehr reichlich Prodigiosus.
Letzter Urin $1^h 55 — 2^h 5$			

Die von den Nieren angefertigten Schnitte bieten dasselbe Bild wie in Vers. 1. Nur sind in keinem der Schnitte im Gewebe Bakterien gefunden worden.



Versuch 3.

Hund, Gew. 7300 ^{grm}, auf den ungeheizten Operationstisch gelagert. Zur Infusion wird eine Aufschwemmung von 3 bei 22^{0} während 21 Stunden gehaltener Agarculturen von Coccus aquatilis in 50 ^{ccm} Kochsalzlösung benutzt. Dieselbe enthält 780 Milliarden Keime. 0·04 Morfin und Chloroformäther während der Operation.

Zeit		R. Niere	L. Niere	Bemerkungen
11^h	Einführen der Katheter in die Ureteren.			Reichliche Secretion klaren Urins
11^h 5—11^{h}25	Infusion von 300 ^{ccm} Kochsalzlösung.			
11^{h}30—11^{h}50	Infus. der Aufschwemmung.			
11^{h}30—11^{h}35	R. u. L. $^3/_4$ ^{ccm} klarer Urin.	0 Col.	0 Col.	
11^{h}35—11^{h}40		0 „	0 „	
11^{h}40—11^{h}45		0 „	0 „	Harnsecretion nimmt allmählich ab.
11^{h}45—11^{h}50		0 „	0 „	
11^{h}50—12^h 00		0 „	0 „	Hund friert.
12^{h}00—12^{h}10		0 „	0 „	
12^{h}10—12^{h}20	R. u. L. nur 2 Tr. in 5 Min.	0 „	0 „	
12^{h}20—12^{h}30		0 „	0 „	
12^{h}30—12^{h}40		0 „	0 „	
12^{h}40—12^{h}50	R. u. L. 6 bez. 5 Tr. in 5 Min.	0 „	0 „	
12^{h}50—1^h	Urinsecretion wieder reichlicher, zunehmend.	6 „	0 „	
1^{h}00—1^{h}10	R. 1$^1/_2$, L. 1$^3/_4$ ^{ccm} in 10 Min.	13 „	27 „	
1^{h}10—1^{h}20		22 „	46 „	
1^{h}20—1^{h}30		34 „	44 „	
1^{h}30—2^{h}30	Harn zur mikroskop. und chem. Untersuchung von jeder Seite besonders aufgefangen.	röthlich gefärbt. Urin	klargelber Urin	Urin von beiden Seiten enthält zahlreiche rothe, spärliche, weisse Blutkörperchen, daneben eine grosse Menge stark lichtbrechend. Kügelchen (kein Fett). Eiweiss positiv, reichlich

Im mikroskopischen Bilde an einzelnen Stellen der Nierenrinde colossale Massen von Kokken regellos durch das Gewebe vertheilt. Sehr starke Hyperämie, besonders auffällig in den Glomerulis, und zahlreiche Blutungen im Gewebe. Im Epithel der gewundenen Harncanälchen herdweise dieselben gelben Pigmentschollen wie bei Vers. 1 und 2.



Versuch 4.

Hund, Gew. 11000 grm. Erhält 0·06 Morfin subcutan, während der Operation Chloroformäther. Am Abend vor der Operation mit Salzfleisch gefüttert, reichlich getränkt. Carotis zur Blutentnahme frei präparirt. Injection von 1 ccm unfiltrirter Aufschwemmung einer alten Cultur eines rothen Farbstoff bildenden, sehr langsam wachsenden Coccus aus der Luft.

Gahalt 80000000 Keime.

Zeit		R. Niere	L. Niere	Bemerkungen
$10^h45—11^h$	Reichl. Urinsecretion, links reichlicher als rechts.	0 Col.	0 Col.	Urin makroskop. während der ganzen Dauer des Versuches klar gelb.
11^h	Injection der Aufschwemmung in die l. Jugularis.	0 „	0 „	
$11^h00—11^h5$	R. $^1/_2$, L. $^3/_4$ ccm.	0 „	0 „	
$11^h\ 5—11^h10$		0 „	0 „	
$11^h10—11^h15$		0 „	0 „	Erste Blutentnahme. In 1 ccm defibr. Blutes 100 K.[1]
$11^h15—11^h20$	R. u. L. $^1/_3$ ccm in 5 Min.	5 „	0 „	
$11^h20—11^h40$	R. 2, L. $1^1/_2$ ccm in 20 Min.	25 „	0 „	
$11^h40—11^h45$		0 „	0 „	
$11^h45—11^h50$		0 „	0 „	
$11^h50—12^h00$	R. 1, L. $^1/_3$ ccm	0 „	0 „	Zweite Blutentnahme. 77 Keime im Cubikcent.
$12^h00—12^h10$		0 „	0 „	
$12^h10—12^h20$		0 „	0 „	
$12^h20—12^h30$	R. u. L. nur je 1 Tr Urin.	0 „	0 „	Dritte Blutentnahme 39 K. im Cubikcentimeter. Der nach Beendigung des Versuches aufgefangene Urin wurde durch ein Versehen fortgegossen.

In den mikroskopischen Präparaten findet sich wieder Hyperämie und auch einzelne aber seltene Hämorrhagieen. Im Gewebe nirgends Keime zu sehen.

[1] Das entnommene Blut wurde defibrinirt und sofort zur Aussaat gebracht. In den folgenden Versuchen wurden, um jede baktericide Wirkung auszuschliessen, 10 ccm Blut in 5 ccm 25proc. Mg-Sulfatlösung aufgefangen (Nissen), dann auch sogleich in die Nährböden gebracht.

Anm. Die alte Cultur wurde benutzt, da die frisch angelegten Culturen von Bacillus liquefaciens fluorescens nicht angegangen waren.



Versuch 5.

Hund, Gew. 14500 grm, wie bei Vers. 4 vorbereitet, bekommt 0·07 Morfin und während der Operation Chloroformäther. Injicirt wird in die linke Vena jugularis $^1/_2$ ccm einer filtrirten Aufschwemmung von einer 19 Stunden bei 22° gewachsenen Bac. fluor. liquef.-Agarcultur. Dieselbe enthält 10 000 000 K.

Zeit		R. Niere	L. Niere	Bemerkungen
9h 40— 9h 50	Urin tropft reichlich und gleichmässig klar.	0	0	
9h 50	Injection der Aufschwemmung in die l. Jugularis.			
9h 50— 9h 55	R. u. L. gleichmässig, etwa $^1/_2$ ccm in 5 Min.	0	0	
9h 55—10h		0	0	
10h—10h 5		0	0	
10h				Erste Blutentnahme. 8 Keime in 1 ccm
10h 5—10h 10		0	0	
10h 10—10h 25		0	0	
10h 25—10h 30		0	0	
10h 30—10h 40		0	0	
10h 40—10h 50		0	0	
10h 50				Zweite Blutentnahme. 5 Keime in 1 ccm Blut.
10h 50—11h 5	Harnsecretion bisher sehr gleichmässig, wird viel spärl.	0	0	
11h 5—11h 20	R. u. L. nur etwa $^1/_3$ ccm in 15 Minuten.	0	0	
11h 20				Drittte Blutentnahme. 3 Keime in 1 ccm Blut.
11h 20—11h 40	Urin aufgefangen zur chem. und mikroskop. Unters.			Harn frei von Blut und Eiweiss.

Mikroskop. Präparate: In beiden Nieren ist die Rinde hyperämisch, man sieht erweiterte Gefässe, trotzdem der Hund durch Entbluten getödtet wurde. Hämorrhagieen und Bakterien im Gewebe nirgends zu finden.

Versuch 6.

Hund, Gew. 8950 grm. 0·04 Morfin subcutan. Zur Operation Narcose mit Chloroformäther. Am Abend vorher mit Salzfleisch gefüttert und reichlich mit Milchwasser getränkt. Drei bei 22° während 19 Stunden gehaltene Culturen des Bac. fluor. liquef. auf schrägem Agar werden mit physiolog. Kochsalzlösung abgeschwemmt und filtrirt. 3 ccm injicirt. Dieselben enthielten — geschätzt — 60 bis 80 Millionen Keime. (Die Zählplatten waren durch ein Versehen vorzeitig entfernt worden.) Urinsecretion, im Anfang schwach, nimmt bald nach der Infusion allmählich zu, auf beiden Seiten ziemlich gleichmässig.



Zeit		R. Niere	L. Niere	Bemerkungen
9h20— 9h30	Secretion 1/4 ccm in 10 Min. beiderseits.	0	0	Urin klar.
9h30— 9h40	Langsame Injection der 3 ccm in die l. Vena jugularis.			
9h30— 9h35		0	0	
9h35— 9h40		0	0	
9h40— 9h45		0	0	
9h45— 9h50	R. u. L. 1 ccm klarer Urin in 5 Minuten.	0	0	Erste Blutentnahme. In 1 ccm 617 Keime.
9h50—10h15		0	0	
10h15—10h30	Beiderseits 3 ccm in 15 Min. Urin klar.	0	0	Zweite Blutentnahme. 34 Keime in 1 ccm.
10h30—10h45		0	0	
10h45—11h	R. 1 ccm. L. 2 ccm klarer Harn in 15 Min.	0	0	Dritte Blutentnahme. 7 Keime in 1 ccm.
11h00—11h30	Urin gesammelt, makroskop. völlig klar.			Zahlreiche rothe Blutkörperchen im Harn. Eiweiss stark positiv.

Hund durch Entbluten getödtet. In den Nierenrinden makroskopisch zahlreiche strich- und punktförmige Blutansammlungen erkennbar.

Mikroskopisch zahlreiche Blutungen, die sich in den Gewebsspalten einen Weg gebahnt haben, stellenweise auch grössere Ansammlungen von Blut. Gefässe stark zusammengefallen, besonders in den Glomeruli, die die Kapsel nur noch theilweise ausfüllen. Auch innerhalb derselben kleine Blutungen. Nirgends im Gewebe Bacillen zu finden.

Versuch 7.

Hund, Gew. 8970 grm. Vorbereitung wie bei Vers. 4—6. 0·05 Morfin. Zur Operation Chloroformäther. Von einer filtrirten Aufschwemmung von vier Agaroberflächen mit B. fluor. liquef., die 20 Stunden bei 22° gewachsen waren, werden 3 ccm injicirt. Dieselben enthalten 110000000 Keime. Urinsecretion, von Anfang an beiderseits reichlich, steigert sich sofort nach der Injection colossal.

Zeit	R. Niere	Wachsth.	L. Niere	Wachsth.	Bemerkungen
10h15—10h25	1 ccm klarer Urin	0	1 ccm klarer Urin	1 Schimmel	
10h25—10h32	Allmähliche Injection von 3 ccm Aufschwemmung in die l. Vena jugul				
10h25—10h30	1 ccm	0	1 ccm	0	
10h30—10h35	2 1/2 „ klaren Urins	0	3 „ klaren Harns	0	
10h35—10h40	3 „	0	3 „	0	
10h40—10h45	3 „	0	3 „	0	
10h45—10h50	3 „	0	3 „	0	Erste Blutentnahme. 120 Keime in 1 ccm.
10h50—11h5	9 „	0	10 „	0	
11h5 —11h15	3 „	0	4 „	0	
11h15—11h25	2 „	0	2 1/2 „	0	



(Fortsetzung.)

Zeit	R. Niere		Wachsth.	L. Niere		Wachsth.	Bemerkungen
11h 25—11h 40	4 ccm	klar. Urin	0	3 ccm	klar. Harns	0	Zweite Blutentnahme. 6 Keime in 1 ccm.
11h 40—11h 55	3 „		0	3 „		0	
11h 55—12h 25	Urin zur mikroskop. u. chem. Untersuchung.						Dritte Blutentnahme. 1. Platte 0 Keime in 1 ccm 2. „ 29 „ „ Urin enthält reichl. rothe Blutkörp., kein Eiweiss. Aussehen völlig klar.

Makroskopisch bieten die Nieren dasselbe Bild wie bei Versuch 6; mikroskopisch ebenfalls.

Die Hunde wurden zu den Versuchen in Morphium-Chloroformnarkose laparotomirt, nach Aufsuchen der Ureteren kurz vor dem Eintritt in's kleine Becken wurden in dieselben sterilisirte Metallkatheter bis hinauf in's Nierenbecken eingeführt, darauf die Bauchhöhle provisorisch wieder vernäht. Aufsuchen der Jugularis und Einbinden einer Canüle in dieselbe bei den ersten drei Versuchen. In den letzten vier Versuchen wurde die Infection mit einer Pravaz-Spritze in's Lumen der Vene hinein gemacht. Bei diesen vier Versuchen wurde auch die Carotis frei präparirt, um aus derselben von Zeit zu Zeit Blut entnehmen zu können.[1]

Erst nach Beendigung aller dieser Operationen und nach Aussetzen der Chloroform-Aethernarkose begann die Injection in die Jugularis. Der vor derselben secernirte Harn wurde im Ganzen aufgefangen und untersucht. Der nachher abtröpfelnde Harn wurde während der Dauer des Versuches vollständig in Gelatineröhrchen aufgefangen, die zuerst alle 5 Minuten, später seltener gewechselt wurden. Der nach Beendigung des Versuches entleerte Harn diente zur Untersuchung auf Blut und Eiweiss. In den ersten drei Versuchen wurden übertrieben grosse Mengen nicht pathogener Bakterien verwandt, in der Hoffnung, dadurch die Wege deutlich zu machen, auf denen die Bakterien die Niere verlassen, auch wenn

[1] Die Carotis wird zu diesem Zwecke auf etwa 5 cm frei präparirt, am proximalen und distalen Ende angeschlungen; erstere Schlinge dient nur zur Sicherung. Etwa 1 cm oberhalb der distalen Fadenschlinge wird ein Faden tangential zu dem Gefässe durch die Adventitia genäht, geknotet und mit einer Schieberpincette gefasst. In der Nähe der proximalen Schlinge wird eine nicht zu stramme Klemmpincette angelegt, darauf die distale Schlinge fest geknotet und die Carotis zwischen Knoten und Schieberpincette durchschnitten. Unter Führung der letzteren kann man dann nach Oeffnung der Klemme jeder Zeit beliebige Mengen Blut in Gefässen steril auffangen.



keine Intoxication des Thieres erfolgt. Die injicirten Flüssigkeitsmengen wurden so langsam und unter so geringem Druck eingeführt (höchstens 40 cm Wasserhöhe), dass eine directe Schädigung dadurch ausgeschlossen war. Dass die Urinsecretion bei den ersten beiden Hunden so gering war, liegt wahrscheinlich daran, dass dieselben auf einem geheizten Tische lagen, was bei den späteren Versuchen vermieden wurde. Ich habe nicht-pathogene Bakterien gewählt, um im Falle eines positiven Resultates den Einwand ausschliessen zu können, dass die Bakterien durch ihre giftigen Stoffwechselproducte eine Schädigung der Zellen erzeugt hätten. Ich ging dabei von folgender Erwägung aus. Wenn die pathogenen Bakterien im Stande sind, durch ihre Stoffwechselproducte oder unter Zerfall ihrer Leibessubstanz die Zellen des gesammten Körpers zu vergiften, so müssen dazu auch einzelne Bakterien, die sich an die Zellen direct anlegen, diesen gegenüber im Stande sein. Eine solche innige Berührung muss aber beim Durchtritt durch die Gefässwände und die Drüsenepithelien statthaben. Gerade die der Durchtrittsstelle benachbarten Zellen befinden sich also, falls es sich um pathogene oder giftige Bakterien handelt, während der Anlagerung und des Durchtrittes unter Giftwirkung. Dass zur Hervorbringung derselben eine längere Zeit nothwendig wäre, ist nicht nöthig anzunehmen; es macht durchaus keine Schwierigkeiten, sich vorzustellen, dass zum Mindesten eine Lähmung sich fast momentan einstellen kann. Sind uns doch Gifte bekannt, die wie Blausäure oder Arsenwasserstoff den fast augenblicklichen Tod eines ganzen Individuums herbeiführen können. Wenn man ein gesundes junges Thier mit Aether oder Chloroform vergiftet, so findet sich schon nach wenigen Minuten eine schwere totale fettige Degeneration des Herzmuskels. Dass thatsächlich bei länger bestehender Infection bleibende degenerative Veränderungen der Gefässe und Nierenepithelien entstehen können und unter solchen Verhältnissen die Passage für Mikroorganismen ermöglicht wird, ist, wie ja auch Biedl und Kraus zugeben, allgemein anerkannt. Dass es sehr schnell zu Blutungen kommen kann, zeigen meine Präparate; feinere mikroskopische Veränderungen der Gefässe sind schon nach 2 Stunden sichtbar gemacht worden (Biedl und Kraus (3), S. 22).

Man wird wohl nicht fehl gehen, wenn man den Beginn solcher Veränderungen in die erste Zeit nach eingetretener Infection verlegt, wobei man sich nur klar machen muss, dass dieselben zuerst leichterer, etwa „moleculärer" Art und bei Aufhören der Schädlichkeit der restitutio ad integrum fähig sein können. Dass diese Annahme nach Biedl und Kraus unbewiesen und überflüssig ist, beweist nichts gegen ihre Möglichkeit. Ob sich derartige Veränderungen in den Zellen, die ja auch vorübergehender Natur sein können, jemals werden histologisch feststellen lassen, ist sehr



fraglich, indessen stehen hier noch Untersuchungen mit wirklich genauen Methoden aus.[1] Man wird von derartigen Untersuchungen allerdings nicht zu viel erwarten dürfen, da nicht alle Zellen Veränderungen zeigen werden, sondern nur die einer Durchtrittsstelle benachbarten. Diese zu Gesicht zu bekommen, wird sich nur durch Anfertigung grosser Schnittreihen erreichen lassen. Ich habe daher meine ursprüngliche Absicht, den feinsten Structurveränderungen der Zellen nachzuforschen, um so leichter aufgegeben, als sich in meisten Präparaten handgreifliche Veränderungen fanden.

Nach dem Gesagten muss ich die Folgerung für unzulässig halten, dass eine schädigende Wirkung auf die Gefässe und Epithelien durch Bakteriengifte nicht stattgefunden haben könne, wenn zwischen Injection und Erscheinen von Bakterien im Harn nur ein nach wenigen Minuten zu bemessender Zeitabschnitt liegt.

Hierzu kommt noch etwas Weiteres. Die „geringen“ Mengen von Bakterien, welche v. Klecki in einem Theil seiner Versuche verwandte, entsprechen durchaus noch nicht dem, was ausserhalb des Experiments vorkommt. Zunächst befinden sich Biedl und Kraus im Irrthum mit der Annahme, dass v. Klecki 0·15 ccm u. s. w. der hergestellten Aufschwemmung zur Injection benutzt habe. Es handelt sich um den entsprechenden Theil der auf der Agaroberfläche gewachsenen Bakterien, und v. Klecki giebt selbst an, dass er mehrere Cubikcentimeter der hergestellten Aufschwemmung injicirt habe und zugleich von der Verdünnung eine Verminderung der toxischen Wirkung erhoffte. Sein Zweck, dadurch die Verhältnisse bei spontanen Erkrankungen nachzuahmen, ist indessen nicht erreicht. Erstens werden immerhin bei seinem Verfahren noch eine grosse Menge von Toxinen in die Blutbahn mit eingeführt, um so mehr, als er meist mehrtägige Culturen benutzte. Ferner ist auch so noch die Zahl der injicirten Bakterien erheblich grösser, als sie bei septikämischen Erkrankungen zu sein pflegt. Nach den Zählungen v. Klecki's fanden sich im Blute nach der Injection oft mehrere Hundert Keime pro Cubikcentimeter,[2] während in den positiven Fällen von Kühnau (39) die Zahl niemals 3 bis 4 Keime in 10 bis 20 ccm Blut überstieg, gewiss noch ein beträchtlicher Unterschied. Ich habe, da die Zahl der Bakterien

[1] Eine sehr genaue Methode der histologischen Untersuchung ist von Sauer (64) angegeben worden, und es ist durchaus nicht unwahrscheinlich, dass sich mit derartigen Untersuchungen Veränderungen schon zu einer Zeit sichtbar machen lassen werden, wo wir es bisher nicht vermutheten. Auch auf anderen Gebieten (z. B. durch die Nissl'sche Färbung der Ganglienzellen) sind auf diese Weise erhebliche Fortschritte gemacht worden.

[2] Im Versuch 26 52 Minuten nach Injection von 0·04 einer 3tägigen Cultur noch 378 Keime pro Cubikcentimeter, in Versuch 28 1 Stunde 8 Min. nach Injection von 0·05 einer 2tägigen Cultur in 1 ccm 46 Keime u. s. w.



nach der Zahl und dem Alter der verwandten Agarculturen nur sehr ungenau zu bestimmen ist, die injicirten Bakterien vermittelst Verdünnung und Plattenzählung direct gezählt, ferner zur Vermeidung der Einführung von Toxinen nicht über 21 Stunden alte Culturen verwandt. Nach den Zählungen ergiebt sich, dass nach 20 Stunden Wachsthum bei 37° auf einer Agaroberfläche etwa 500 000 000 000 Prodigiosuskeime vorhanden waren; beim Vibrio Finkler-Prior noch mehr, bei Coccus aquatilis etwas weniger. Der hundertste Theil einer solchen Cultur enthält also immer noch 5 000 000 000 Keime. Nehmen wir für den Pyocyaneus und die älteren Culturen auch viel geringere Zahlen an, so bleiben immer noch Bakterienmengen übrig, wie sie unter natürlichen Verhältnissen wohl niemals in der Circulation vorhanden sein werden, so dass also auch von v. Klecki's Versuchen nicht angenommen werden kann, dass sie unter Bedingungen ähnlich den in der Natur vorkommenden stattgefunden hätten.

Ein anderer Punkt ist auch noch von Wichtigkeit; in unfiltrirten Abschwemmungen, wie sie v. Klecki anwandte, finden sich immer grössere Bröckel, die, wenn auch nicht mit blossem Auge sichtbar, doch im Stande sein können, Capillargefässe zu verstopfen. Bleiben die grösseren bei Injection in eine Vene auch in den Lungen stecken, so können immer noch durch die dort weiteren Capillaren Partikel hindurchgehen, die in den Nieren Alterationen des Kreislaufes herbeizuführen im Stande sind. Ich habe dies zu vermeiden gesucht, indem ich die Abschwemmungen durch sterile Filter gehen liess.

Durch die in der Litteratur vorliegenden Versuche ist nur Folgendes einwandsfrei nachgewiesen worden: dass nach oft schon sehr kurzer Zeit (im Minimum 3 Minuten) in die Blutbahn gebrachte Mikroorganismen im Harn wieder erschienen, auch ohne künstliche Anregung der Harnsecretion und ohne dass rothe Blutkörperchen oder Eiweiss im Harn sich zeigten.

Damit ist aber meines Erachtens nach den obigen Ausführungen nichts dafür bewiesen, dass es sich um eine physiologische Ausscheidung handelt.

Die Kürze der Zeit und die Anwendung geringer Bakterienmengen durch v. Klecki beweist, wie erörtert, durchaus noch nichts gegen die Möglichkeit einer Schädigung der betheiligten Zellen durch die Bakteriengifte. Ferner liegt es im Wesen einer „physiologischen“ Function, dass dieselbe innerhalb gewisser Grenzen unter gleicher Veranlassung in gleicher Weise eintritt. Wenn wir uns darauf die Versuche v. Klecki's ansehen, so finden wir diese Bedingung nicht erfüllt. Einmal setzt die Ausscheidung der Bakterien niemals so prompt ein, wie wir dies fordern müssten, und ferner hört sie auf, wenn noch Bakterien im Blute kreisen



in einer Zahl, wie sie selbst bei schwersten Infectionen auf natürlichem Wege zum Mindesten sehr selten vorkommt. So z. B. in Versuch 17, wo eine Ausscheidung 22 Minuten, nachdem 104 Keime im Cubikcentimeter Blut gezählt waren, zum letzten Male eintrat. 1 Stunde später waren noch 10 Keime in 1 ccm Blut enthalten. Bei Versuch 28 kam es überhaupt zu keiner Ausscheidung, obwohl in 1 ccm Blut nach 1 Stunde 8 Minuten 44 Keime kreisten. In einem Theile der Versuche unterblieb überhaupt jede Ausscheidung in der Beobachtungszeit.

Biedl und Kraus, sowie v. Klecki weisen übrigens selbst zum Ueberfluss darauf ausdrücklich hin, dass ceteris paribus eine Ausscheidung (von Bakterien) durch die Nieren erfolgen kann, aber nicht muss, bestreiten also selbst das „Physiologische" an diesem Vorgange. Oder wir müssten dann in den Fällen, wo eine Ausscheidung nicht statthat, nach Ursachen für ein Ausbleiben dieses physiologischen Vorganges suchen, d. h. annehmen, dass gerade in den Fällen, wo keine Bakterien im Harn erscheinen, pathologische Verhältnisse vorliegen, und dafür haben wir nicht den geringsten Anhalt. Biedl und Kraus, sowie v. Klecki selbst bleiben uns eine Erklärung für die Ursache, weshalb ein Mal eine Ausscheidung statthat, ein anderes Mal nicht, schuldig.

Ein weiterer Grund gegen die Annahme einer physiologischen Ausscheidung liegt in den histologischen Befunden. Wir finden die Bakterien nicht in den Drüsenepithelien, sondern der Austritt vollzieht sich in den Glomerulis.[1] Wäre von einer, den normalen Verhältnissen entsprechenden Ausscheidung der Bakterien aus dem Blute die Rede, so müsste, nach Analogie der in's Blut gespritzten Milch-Fetttröpfchen, eine Ausscheidung durch die Nierenepithelien statthaben.[2] Aber selbst wenn man diesen Einwurf nicht anerkennen will, so ist eine Erklärung schwer zu finden, die den Modus einer Ausscheidung durch die Glomeruli uns als physiologisch verständlich machte. Von vornherein ist ein Vergleich des Austrittes der Bakterien aus Gefässen mit der Diapedese der weissen oder selbst rothen Blutkörperchen nicht so ohne Weiteres zulässig. In meinem Versuch 6 waren z. B. reichlich rothe Blutkörperchen im Harn, während Bakterien nicht nachgewiesen werden konnten. Kommt es zu einer Diapedese rother Blutkörperchen — ein Vorgang, der zum Mindesten für die

[1] v. Klecki fand einmal ein Bacterium zwischen den Epithelien der gewundenen Canälchen, sonst in Gefässen oder Glomerulis oder im Lumen der Harncanälchen. Ich habe ausser den massenhaften Bakterien in Versuch 3 nur einmal zwei Vibrionen in der Kittsubstanz zwischen den Drüsenepithelien gesehen, sonst fehlten Bakterien im Gewebe gänzlich. Dies wäre wohl nicht möglich, wenn die Ausscheidung durch die Epithelien stattgefunden hätte.

[2] Hofmann, Röhrig, Maas, Wiener, citirt nach Landois, *Physiologie*. S. 539.



Nieren[1] als pathologisch anzusehen ist — so ziehen sich die ausserordentlich elastischen Blutkörperchen zu dünnen Fäden während des Durchtrittes aus. Dies ist bei den Bakterien, die eine relativ sehr bedeutende Starrheit besitzen und häufig noch dazu durch eine Hülle erheblich umfänglicher sind, nicht möglich. Damit wächst auch die Schwierigkeit, einen solchen Austritt als physiologisch ansehen zu können. Nur durch gewaltsame Auseinanderdrängung oder Lähmung der Gefässendothelien wird ein Bakterium aus dem Gefässlumen herausschlüpfen können. Dies würde eine Verletzung der Gefässwand bedeuten, die wieder einer Reparatur bedarf, also nicht als physiologisch betrachtet werden kann.

Von diesem Gesichtspunkte aus lässt sich auch die Ausscheidung der so sehr viel kleineren Körnchen von Anilinblau durch die Nieren verstehen (Biedl und Kraus).

Mit dem Austritt aus den Gefässen sind die Bakterien aber noch nicht im Harn, sondern erst unter den Epithelien, welche die Gefässschlingen der Glomeruli in ununterbrochener Schicht überziehen. Um das Ueberwinden auch dieses Hindernisses zu erklären, müsste wieder eine Art Diapedese angenommen werden. In einzelnen Präparaten, die Hr. Dr. Kühnau so gütig war, mir zur Verfügung zu stellen, fanden sich nach Pyocyaneusinjection Massen von Bakterien unter der Glomeruliskapsel, ohne in den freien Raum auszutreten.

Die Behauptung von Biedl und Kraus, dass die Bakterien-Ausscheidung durch vermehrte Diurese gleichfalls gesteigert würde, ist durch ihre Versuche nicht bewiesen. Die Unterschiede im zeitlichen Erscheinen der injicirten Mikrobien mit und ohne Anregung der Diurese sind viel zu gering, um diesen Schluss rechtfertigen zu können, ebenso wenig sind die Zahlen der Bakterien, wie sie angeführt werden, beweisend. In v. Klecki's Versuchen war ein solcher Einfluss überhaupt nicht zu erkennen. Auch hierin ist also nichts für eine physiologische Ausscheidung bewiesen.

Von der Besprechung des Ausscheidungsmechanismus wollen Biedl und Kraus die Frage getrennt wissen, inwieweit die Ausscheidung von Mikroorganismen als Schutz- und Heilvorrichtung in Betracht kommt. Dies ist ja auch natürlich, denn die aus dem Kreislauf in der That entfernten Mikroorganismen sind zu wenig zahlreich, um für eine derartige Heilwirkung in Betracht zu kommen. Es ist mir aber nicht verständlich, weshalb man sich dann noch Mühe geben soll, etwas Physiologisches in dem Mechanismus der Ausscheidung zu suchen, wenn schon von vorn-

[1] Biedl u. Kraus betrachten selbst in ihrer Arbeit (*Archiv für experimentelle Pathologie*, Bd. XXXVII) den Austritt rother Blutkörperchen in den Harn als Kriterium eines pathologischen Vorganges.



herein feststeht, dass eine derartige Function als Schutz- und Heilvorrichtung des Organismus nicht oder nur in sehr geringem Maasse in Betracht kommen kann. Bei allen sonstigen physiologischen Leistungen unseres Körpers sind wir doch in der Lage, eine ausgesprochene Zweckmässigkeit zu erkennen oder zu erschliessen.

Der Nachweis irgend welcher Abhängigkeit der Bakterienausscheidung von der Zahl der im Blute kreisenden Bakterien ist durch v. Klecki trotz seiner gegentheiligen Behauptung nicht erbracht worden. Genau in derselben Weise, wie die Bakterienausscheidung nach erneuter Injection von Bakterien in den Versuchen 11, 14, 23 und 26 begann, setzte sie auch in den Versuchen 24 und 25, nachdem eine Pause eingetreten war, ohne neue Zufuhr wieder ein. In Versuch 14 dauerte es 21 Minuten, bis nach der zweiten Injection Bakterien im Harn wieder erschienen. Bemerkenswerth sind die Culturversuche, die v. Klecki mit den Nieren anstellte. Diese erwiesen sich oft steril, während noch zahlreiche Bakterien im Blute kreisten, entsprechend der Beobachtung, dass in meinen mikroskopischen Präparaten, trotz Injection kolossaler Massen von Bakterien, nur sehr selten ein Keim zu sehen war. Käme es zu einer wirklichen physiologischen Ausscheidung von Bakterien, so müssten, auch wenn sie schubweise erfolgt, doch die Bakterien in den Nieren eher zurückgehalten werden, damit ihre Beförderung nach aussen erfolgen könnte. Auch hierin muss ich einen Beweis gegen eine physiologische Ausscheidung sehen.

Die Forderungen, die wir an eine physiologische Thätigkeit der Nieren stellen müssen, sind also nicht erfüllt. Das Einzige, was dafür spricht, ist die kurze Zeit, nach der injicirte Bakterien im Harne erscheinen können. Indessen ist diese, wie alle anderen beobachteten Erscheinungen, einer zwanglosen Erklärung zugänglich.

Wir müssen hier zunächst zwischen pathogenen und toxisch wirkenden Bakterien einerseits und harmlosen andererseits unterscheiden, deren Grenzen allerdings fliessend sind, da wir auch von harmlosen Bakterien wissen, dass sie, in sehr grossen Mengen eingeführt, die Thiere tödten können. Werden Mengen von den ersteren Bakterien in den Kreislauf gebracht, so werden zugleich eine gewisse Menge Toxine, die noch durch den sofort beginnenden Zerfall der Bakterien vermehrt werden, dem Blute beigemischt. Diese werden, je nach der Menge, eine Lähmung oder Abtödtung der weniger widerstandsfähigen Zellen der Gefässe und auch der Nierenepithelien herbeiführen können, zumal nicht, wie bei anderen Vergiftungen, eine allmähliche Gewöhnung stattfinden kann, sondern die Zellen plötzlich der Giftwirkung ausgesetzt werden.

Theils unter dem Drucke des Blutes, theils vermittelst der Eigenbewegungen kann daher eine Zahl von Bakterien die Gefässe schnell ver-



lassen und nach kurzer Zeit im Harne erscheinen, wobei noch die directe Vergiftung der Zellen durch einzelne angelagerte Bakterien (s. oben) unterstützend wirkt. Diese Ausscheidung kann verschieden lange andauern, je nachdem die Schutzmassregeln des Organismus im Stande sind, die Toxine und die Bakterien selbst unschädlich zu machen oder aus dem Kreislauf zu entfernen und die geschädigten Zellen sich erholen oder durch andere ersetzt werden. Dass diese erste Ausscheidung nur geringe Dimensionen haben kann, hat nichts Befremdliches, da nur ein kleiner Theil der Zellen im Kampfe mit den Giften unterliegen wird. Wir sehen ja auch unter anderen pathologischen Verhältnissen, dass von Zellen, die der gleichen Schädlichkeit ausgesetzt sind, nur ein Theil Veränderungen zeigt und dass z. B. Nekrosen immer herdförmig einsetzen, obwohl sämmtliche Zellen mit den die Nekrose bewirkenden Giften in Berührung kommen. Ein derartig wechselndes Verhalten der Gewebe liefert die Erklärung für die geringe Menge der ausgeschiedenen Bakterien und das atypische Verhalten der Ausscheidung. Dass thatsächlich solche Giftwirkungen und anderweitige Schädigung der Nieren für die Ausscheidung in Betracht kommen, wird durch die Versuche von Cavazzani (12) wahrscheinlich gemacht, der eine Ausscheidung von injicirtem Prodigiosus nur bei gleichzeitiger Pyrogallol- oder Cantharidinverabreichung oder zeitweiser Unterbindung der Arteria renalis erhielt. Hierher gehört auch eine Beobachtung von Sittmann (70), dass die Schnelligkeit der Ausscheidung von Staphylokokken sich mit der Virulenz steigert. — Allmählich werden die im Blute kreisenden Mikrobien aus demselben entfernt, womit natürlich die Ausscheidung auch aufhört. Kommt es später zu einer Weiterentwickelung von Bakterien in den Ablagerungsstätten und zu einer erneuten Aussaat von Mikrobien in den Kreislauf von diesen Herden aus, d. h. also zu einer septico-pyämischen Erkrankung, so kann die Ausscheidung von Bakterien im Harn von Neuem beginnen. Wir haben dann das Bild der Bakteriurie, wie sie für zahlreiche septische Erkrankungen mit Sicherheit nachgewiesen ist, bei der auch Eiweiss und Blut im Harn meist nicht zu fehlen pflegen und die Nieren degenerative Processe zeigen.

Ist die Menge der injicirten Bakterien zu gross gewesen, als dass sie aus dem Kreislauf entfernt werden könnten, so kann die Ausscheidung fortgehen, wie auch in einem Theile der Versuche von Biedl und Kraus geschehen (2, Seite 20, 8, Seite 11).

Für die ungiftigen Bakterien liegen die Verhältnisse anders. Hier kann natürlich von einer Giftwirkung auf die Gefässzellen und Nierenepithelien nicht oder nur in sehr beschränktem Maasse die Rede sein. Werden sehr grosse Massen von Bakterien injicirt, so kommt es, wie ohne Weiteres verständlich, zu Verletzungen der Gefässe, die zu vollständiger



oder theilweiser Anurie führen können. Wie aus den mikroskopischen Bildern bei meinen Versuchen ersichtlich, treten hier kolossale Hyperämie und Gefässrupturen auf. Die letzteren erfolgen meist nicht in den Glomerulis, trotzdem auch diese ganz riesig ausgedehnt und mit Blutkörperchen strotzend gefüllt sind, sondern meist in dem Capillarnetz, das die Harncanälchen, besonders die gewundenen, umspinnt. Trotzdem erscheinen die Bakterien gewöhnlich erst spät im Harn (das zeitigste ist 51 Minuten nach Beginn der Infusion, ausser in Versuch 3, wo bei Verwendung der alten Cultur eine Giftwirkung vielleicht nicht ausgeschlossen ist), und zwar gleichzeitig mit rothen Blutkörperchen. Ich muss also annehmen, dass Gefässrupturen die Ursache des Uebertrittes von Bakterien in den Urin sind. Solche Rupturstellen werden durch Blutgerinnsel schnell verstopft und damit hört auch der Bakteriengehalt des Urins wieder auf (Versuch 4, wo nur zwischen 16 und 40 Min. im Harn der rechten Niere die injicirten Bakterien sich fanden). Begünstigt werden diese Gefässalterationen noch durch Verwendung nicht filtrirter Bakterienaufschwemmungen, da ja grössere Bröckel gewiss leichter zu Gefässverletzungen führen können. Dies findet eine Erklärung in der Analogie mit dem Entstehen der Endocarditis.[1]

Reichen die Bakterienmengen nicht hin, um Gefässverletzungen und Blutungen herbeizuführen, so bleiben auch die Bakterien im Harne aus, selbst wenn sehr erhebliche Mengen injicirt werden (Versuch 6 und 7) und die Urinsecretion reichlich ist.

Auf eine gewaltige Störung des Gefässsystems, wenigstens der Niere, deutet auch die Verminderung der Urinsecretion bei Infusion sehr grosser Bakterienmassen, trotz Infusion zum Theil grosser Mengen Flüssigkeit in's Gefässsystem, hin. Diese Wirkungen injicirter Bakterien mehr mechanischer Art können sich natürlich mit den toxischen Wirkungen bei pathogenen Bakterien vereinigen, und darnach lassen sich die Versuchsresultate von Biedl und Kraus und von v. Klecki ganz zwanglos erklären (Versuch 4). Dass auch hier zuweilen Blutungen stattgefunden haben, ist direct aus den Protocollen von Biedl und Kraus ersichtlich. Wenn man auch keine rothen Blutkörperchen mehr im Harnsedimente beobachten kann, so beweist dies nichts dagegen, dass trotzdem ein Blutaustritt vorher stattgefunden hat. Geringe Mengen desselben können auch der Untersuchung sehr viel leichter entgehen als Bakterien, ausserdem schliesst das Fehlen von Blutkörperchen in dem zu einer Zeit secernirten Harne die Anwesenheit von solchen in anderen Portionen Urins nicht aus, da ja der Austritt von Blutelementen auch wieder aufhören kann. Ueberdies ist

[1] Wyssokowitsch, Beiträge zur Lehre von der Endocarditis. Virch. *Archiv*. Bd. CIII.



aus den Protocollen von Biedl und Kraus nicht ersichtlich, ob der Harn, der Bakterien enthielt, jedes Mal gleichzeitig und mikroskopisch auf das Vorhandensein von Blutbestandtheilen und Eiweiss untersucht wurde, und bei dem Fehlen histologischer Untersuohungen der Nieren ist das Vorhandensein selbst von Gefässrupturen durchaus nicht ausgeschlossen. Das plötzliche Auftreten und Verschwinden grösserer Massen von Bakterien im Harn deutet jedenfalls auf eine solche Ursache auch in einem Theil der Fälle hin, in denen kein Blut im Urin beobachtet wurde, nachdem ich durch meine Präparate den Beweis des Vorkommens derselben unter ähnlichen Versuchsbedingungen erbracht habe. Denn wenn schon ungiftige Bakterien im Stande sind, allein durch mechanische Wirkungen Gefässzerreissungen herbeizuführen, wie viel mehr pathogene, bei denen noch die Giftwirkung hinzukommt.

Durch die voranstehenden Erörterungen scheint es mir erwiesen, dass von einer physiologischen Ausscheidung von Bakterien durch die Nieren in keiner Richtung die Rede sein kann, selbst nicht in dem Sinne, den Biedl und Kraus dem Worte „physiologisch" beilegen. Der menschliche oder thierische Körper bedarf ja auch der Nieren gar nicht, um sich von in die Blutbahn eingedrungenen Keimen zu befreien. Wie wir aus den Protocollen der Versuche v. Klecki's und von mir ersehen, nimmt die Keimzahl im Blute, auch ohne dass es zu einer Ausscheidung durch die Nieren kommt, sehr schnell ab. Es steht dies ganz im Einklange mit den von Wyssokowitsch erhaltenen Resultaten, der uns zugleich als Ablagerungs- und Vernichtungsstätten der Mikroorganismen Leber, Milz und Knochenmark kennen lehrte. Wie ausgezeichnet diese Vorrichtung unseres Körpers functionirt, lässt sich durch eine kleine Berechnung deutlich machen. In meinem Versuch 5 erhielt der Hund 10 000 000 Keime. Von einer 20 Minuten später entnommenen Blutprobe enthielt 1 ccm nur 8 Keime, während die Injectionsmenge 9000 Keime auf 1 ccm Blut betrug. Eine Ergänzung einer solchen Schutzwirkung durch die Nieren brauchen wir also auch nicht einmal zu wünschen.

Aus den Erörterungen ergiebt sich, dass wir bei Infectionskrankheiten von einer vermehrten Diurese eine Heilwirkung in dem Sinne nicht erhoffen dürfen, dass sie im Stande wäre, die Keimzahl im Blute durch directe Ausscheidung zu vermindern. Die Aufgabe der Diurese und auch der Diaphorese dürfte lediglich in der Entfernung der Stoffwechselproducte der Bakterien und der Zerfallsproducte der schon im Blute oder in den Ablagerungsstätten vernichteten Keime bestehen. Wir haben also allen Grund, in Krankheitsfällen die Diurese und Diaphorese zu unterstützen, auch wenn es nicht zu einer Ausscheidung von Bakterien im Harn und Schweiss kommt. —



Die Resultate der vorliegenden Arbeit fasse ich kurz in Folgendem zusammen:

Die normale Darmwand ist für die Darmbakterien undurchdringlich, ein Uebertritt von Bakterien in den Chylus während der Verdauung findet nicht statt.

Geringe Alterationen der Darmwand vermögen diese Schutzwirkung nicht aufzuheben, selbst schwere mechanische und chemische Läsionen führen nur ausnahmsweise zu einem Durchbruch von Bakterien in den Kreislauf.

Ein agonales Eindringen von Keimen in den Kreislauf ist, zum Mindesten vom Darme aus, nicht bewiesen.

Eine physiologische Ausscheidung von im Blute kreisenden Bakterien durch die Nieren giebt es nicht.

Das häufig beobachtete Auftreten von Keimen im Harn schon kurz nach Injectionen in die Blutbahn beruht auf mechanischen und chemischen Verletzungen der Gefässwände und Nierenepithelien.

Anmerkung. Die vorstehende Arbeit wurde am 1. März 1898 abgeschlossen, die später erschienene Litteratur konnte deshalb nicht berücksichtigt werden.



Litteratur,

betreffend Bakterien-Ausscheidung durch die Nieren.

1. Anton und Fütterer. Ref. Baumgarten. 1888. S. 148.

2. Baumgarten, *Patholog. Mykologie.* Bd. II. (Cit. nach B. u. K.)

3. Biedl u. Kraus, Ueber die Ausscheidung der Mikroorganismen durch die Niere. *Archiv für experimentelle Pathologie.* Bd. XXXVII. S. 1.

4. Dieselben, Weitere Beiträge über die Ausscheidung der Mikroorganismen durch drüsige Organe. *Centralblatt für innere Medicin.* 1896. S. 737.

5. Dieselben, Ueber die Ausscheidung der Mikroorganismen durch drüsige Organe. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXVI. S. 353.

6. Bouchard, *Rev. de méd. expér.* 1881. T. I. p. 671. (v. K.)

7. Boccardi, Sulle permeabilita del glomerulo malpighiano al bac. anthrac. *Rif. med.* 1888. Ref. Baumgarten. 1888. S. 104.

8. Brunner, Ueber die Ausscheidung pathogener Mikroorganismen durch den Schweiss. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1891. Nr. 21.

9. Derselbe, *Deutsche Medicinal-Zeitung.* 1896. Nr. 1—3 u. 7.

10. Buchner, Beiträge zur Kenntniss des Neapeler Cholerabacillus u. s. w. *Archiv für Hygiene.* Bd. III. S. 391.

11. Canon, *Deutsche Zeitschrift für Chirurgie.* Bd. XXXVII. S. 571.

12. Cavazzani, Ueber die Absonderung der Bakterien durch die Nieren. *Centralblatt für Pathologie.* 1893. Bd. IV. (v. K.)

13. Chamberland et Roux, *Annales belges.* 1884. Ref. Virchow-Hirsch. 1884. Bd. I. S. 576. (v. K.)

14. Charrin, Note relative à la bactériologie du lait etc. *Compt. rend. Soc. biol.* 1895. p. 68. Ref. Baumgarten. S. 606.

15. Chvostek, Ueber die Verwerthbarkeit bakteriol. Blut-Harnbefunde u. s. w. *Wiener klin. Wochenschrift.* 1895. Nr. 26.

16. Cohn u. Neumann, Ueber den Keimgehalt der Frauenmilch. Virchow's *Archiv.* Bd. CXXXVI. (v. K.)

17. Cohnheim, *Vorlesungen über allgemeine Pathologie.* 1882. — Virchow's *Archiv.* Bd. XL. (B. u. K.)

18. Cotton, *Sitzungsberichte der K. K. Akademie der Wissenschaften in Wien.* 1896. Bd. CV. Abth. III. (Cit. nach Biedl u. Kraus.)

19. v. Eiselsberg, Nachweis von Eiterkokken im Schweisse einer Pyämischen. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1891. Nr. 23. Ref. Baumgarten. 1891. S. 41.

20. Emmerich, Untersuchungen über die Pilze der Cholera asiatica. *Archiv f. Hygiene.* Bd. III. — *Fortschritte der Medicin.* Bd. XXXV. S. 653.

21. Engel, Experimentelle Untersuchungen über Bacteriurie bei Nephritiden. *Deutsches Archiv für klin. Medicin.* Bd. LVI. 1 u. 2. Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XIX. S. 76.

22. Enriquez, Recherches bacteriol. sur l'urine normale. *Sem. méd.* T. IX.

23. Escherich, Bakteriolog. Untersuchungen der Frauenmilch. Ref. Baumgarten. 1885.

24. Faulhaber, Ueber das Vorkommen von Bakterien in den Nieren bei acuten

Infectionskrankheiten. Ziegler's *Beiträge.* 1891. Bd. X. Ref. *Centralblatt.* Bd. X. Ref. Baumgarten. 1891. S. 253 u. 529.

25. v. Fodor, Bakterien im Blute lebender Thiere. *Archiv für Hygiene.* Bd. IV.

26. Derselbe, Neue Versuche mit Injection von Bakterien in die Venen. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1886. S. 617. Ref. Baumgarten. 1886. S. 381.

27. Derselbe, Die Fähigkeit des Blutes, Bakterien zu vernichten. *Ebenda.* 1887. Nr. 34.

28. Franz, Ueber die Bakterien der männlichen Urethra und deren Einfluss auf den Keimgehalt des Harns. *Wiener klin. Wochenschrift.* 1696. Nr. 28. (Chv.)

29. Fütterer, *Münchener med. Wochenschr.* 1888. Ref. Baumg. 1888. S. 148.

30. Gärtner, Versuche der praktischen Verwerthung des Nachweises von Eiterkokken im Schweisse Septischer. *Centralblatt für Gynäkologie.* 1891. Nr. 40. Ref. Baumgarten. 1891. S. 41.

31. Geisler, Ueber Ausscheidung von Typhusbacillen durch den Schweiss. *Wratsch.* 1893. — *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XIII. S. 767.

32. Hinze in Lubarsch-Ostertag, *Ergebnisse der allgemeinen Aetiologie.* Wiesbaden 1896. I. (v. K.)

33. Hoffmann u. Langerhans, Ueber den Verbleib des in die Circulation eingeführten Zinnobers. Virchow's *Archiv.* Bd. XLVIII. (v. K.)

34. Karliński, Untersuchungen über das Vorkommen von Typhusbacillen im Urin. *Prager med. Wochenschrift.* 1890. Ref. Baumgarten. 1890. S. 270.

35. v. Klecki, *Archiv für experimentelle Pathologie.* Bd. XXXIX.

35a. Konjajeff. Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. IV. S. 672.

36. Kraus, Bakteriolog. Blut- und Harnuntersuchung. *Zeitschr. f. Heilkunde.* Bd. XVII. Ref. *Centralblatt.* Bd. XXI. S. 545.

37. Derselbe, Ueber die Verwerthbarkeit bakteriol. Blut- u. Harnbefunde etc. *Wiener klin. Wochenschrift.* 1895. Nr. 20. Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XVII. S. 238.

38. Kruse in Flügge, *Die Mikroorganismen.* I. S. 375.

39. Kühnau, Ueber die Resultate und die Leistungsfähigkeit d. bakteriol. Blutuntersuchung. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXV. S. 492.

40. Letienne, Rech. bactériol. sur la bile humaine. *Arch. de méd. expér.* 1891.

41. Longard, Ueber die Identität der Staphylokokken, welche in der Milch u. den Abscessen vorkommen. Ref. Baumgarten. 1886. S. 19.

42. Maas, *Deutsche Zeitschrift für Chirurgie.* Bd. XII. (B. u. K.)

43. Meyer, Ueber Ausscheidungstuberculose der Nieren. Virchow's *Archiv.* Bd. CXLI. Ref. Baumgarten. 1895. S. 724.

44. Neumann, Ueber Typhus-Bacillen im Urin. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1890. Nr. 6. Ref. Baumgarten. 1890. S. 229.

45. Derselbe, Ueber ein masernähnliches Exanthem b. Typhus. Ref. Baumgarten. 1890. S. 43.

46. Derselbe, Ueber die diagnostische Bedeutung der bakteriol. Urinunters. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1888. Nr. 7.

47. Nissen, Die bakterienvernichtenden Eigenschaften des Blutes. *Diese Zeitschrift.* Bd. VI. S. 487.

48. Nuttal, Experimente über die bakterienfeindl. Einflüsse d. thier. Körpers. *Ebenda.* Bd. IV. S. 88.

49. Orth, Ueber bakterische Ausscheidungserkrankungen d. Nieren. Ref. Baumgarten. 1894. S. 597.

50. Pernice und Alepi, Le alterazione di sangue etc. Ref. Baumgarten. 1891. S. 531.

51. Pernice und Polacci, Intorno alla influenza della secrezione urniaria etc. *Riform. med.* 1891. (v. K.)

52. Pernice und Scagliosi, Ueber d. Ausscheidung d. Bakterien aus d. Organismus. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1892. Nr. 34. Ref. Baumgarten. 1892. S. 569.

53. Dieselben, Experimentelle Nephritis bakter. Ursprunges. Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XV und Baumgarten. 1894. S. 563.

54. Philippowicz, Ueber d. Auftreten pathog. Mikroorgan. im Harne. Ref. Baumgarten. 1885.

55. Ponfick, *Archiv für pathol. Anatomie.* Bd. XLVIII. (B. u. K.)

56. Posner und Lewin, Ueber krpptogenetische Entzündungen, namentl. der Harnorgane. Ref. Baumgarten. 1894. S. 594.

57. Preto, *Riform. med.* 1892. No. 21. Ref. *Centralbl. f. Bakteriol.* Bd. XI. S. 445.

58. Queirolo und Penny, La diaforesi nelle malattie infettive febrili. Ref. Baumgarten. 1890. S. 559.

59. Rénon Passage du mycèle de l'Asperg. fumig. dans les urines. *Sem. méd.* 1896. — *Centralblatt für Bakteriologie.* 1896.

60. Ribbert, Unsere jetzigen Kenntnisse v. d. Erkrankung der Nieren b. infect. Krankh. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1884. S. 682, u. 1889. S. 39. Baumgarten. 1889. S. 516.

61. Derselbe, Weitere Unters. über d. Schicksal pathog. Pilze im Organismus. *Ebenda.* 1885. Nr. 42. Baumgarten. 1885. S. 162.

62. Ringel, Ueber d. Keimgehalt d. Frauenmilch. *Münchener med. Wochenschrift.* 1893. Nr. 27. Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XIV. S. 429.

63. Rossbach, *Centralblatt für d. med. Wissenschaften.* 1882. S. 81. (Chv.)

64. Sauer, *Archiv für mikroskopische Anatomie.* Bd. XLVI. S. 109.

65. Scheurlen, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. VIII. S. 257.

66. Schweizer, Ueb. d. Durchgehen v. Bacillen durch d. Nieren. Virchow's *Archiv.* Bd. CX. Ref. Baumgarten. 1887. S. 410.

67. Sherington, Experiments of the escape of bacteria with the Secretions. Ref. Baumgarten. 1894. S. 611.

68. Siebel, Ueber d. Schicksal von Fremdkörpern in d. Blutbahn. Virchow's *Archiv.* Bd. CIV.

69. Singer, Bakteriol. Harnuntersuchungen b. acutem Gelenkrheumat. *Wiener klin. Wochenschrift.* 1894. S. 449. Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XVIII. S. 130.

70. Sittmann, Bakterioskop. Blutuntersuchungen etc. *Deutsches Archiv für klin. Medicin.* Bd. LIII. Baumgarten. 1894. S. 26.

71. Solomonson und Dircking Holmfeld, *Fortschritte d. Medicin.* Bd. II. (Citirt nach Chvostek.)

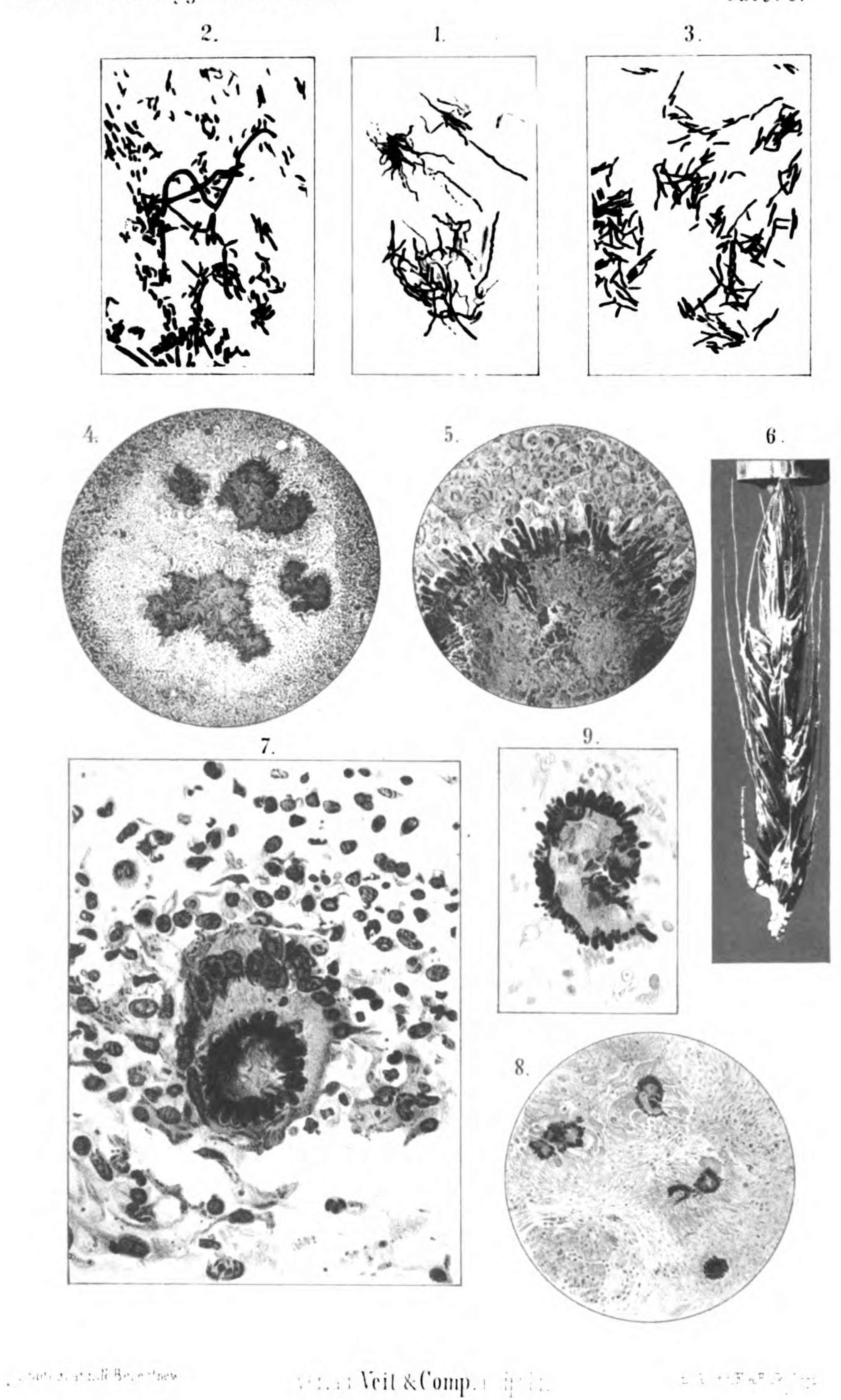
72. Stricker, *Vorlesungen über Pathologie.* 1878—1883. (B. u. K.)

73. Sudakow, Ueber die Ausscheidung pathog. Mikroorganismen im Schweiss. *Wratsch.* 1893. Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XIV. S. 817.

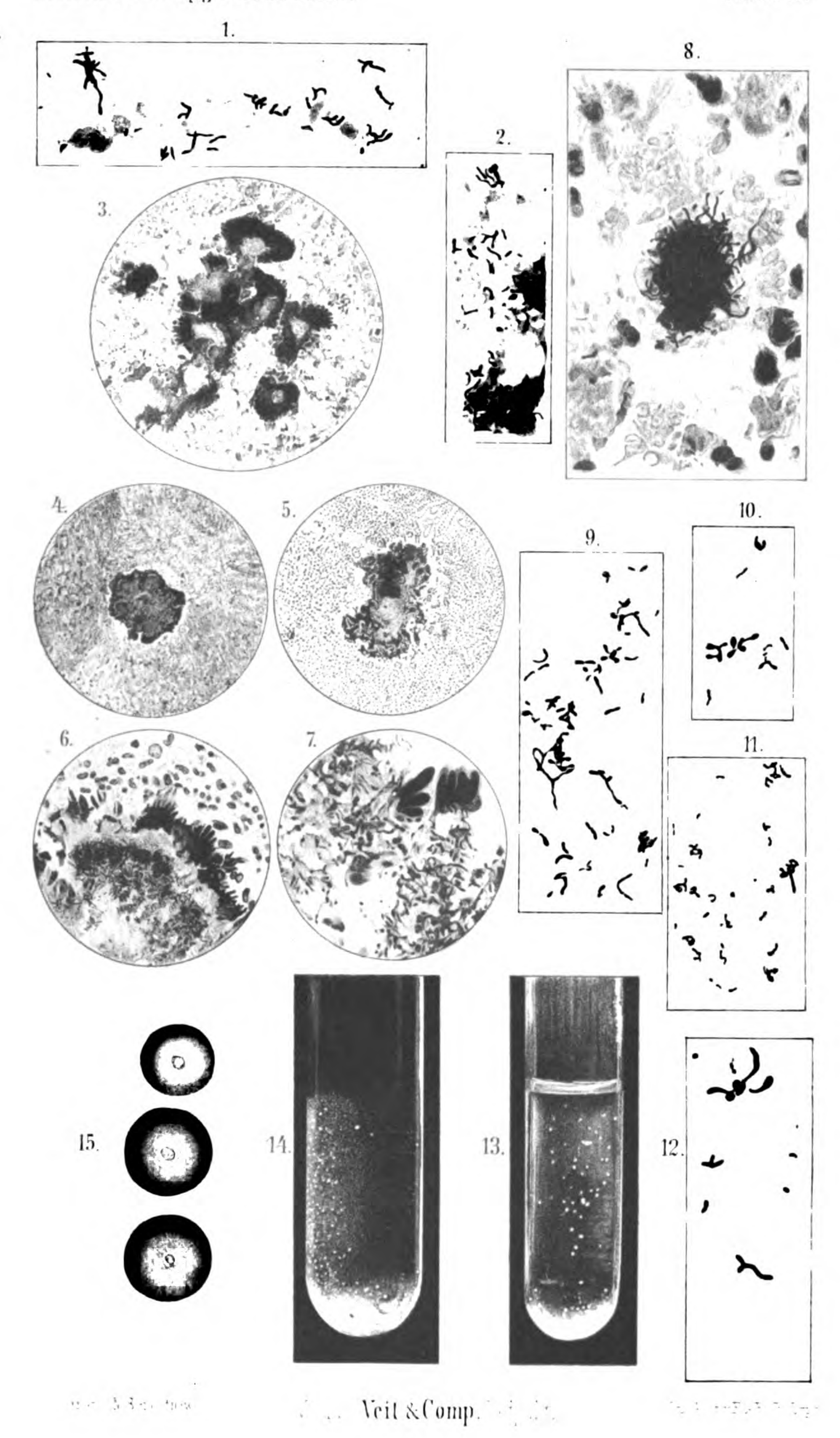
74. Trambusti und Maffucci. Ref. Baumgarten. 1886. S. 382.

75. Wyssokowitsch, Ueber die Schicksale in's Blut injicirter Mikroorganismen etc. *Diese Zeitschrift.* Bd. I. S. 1.

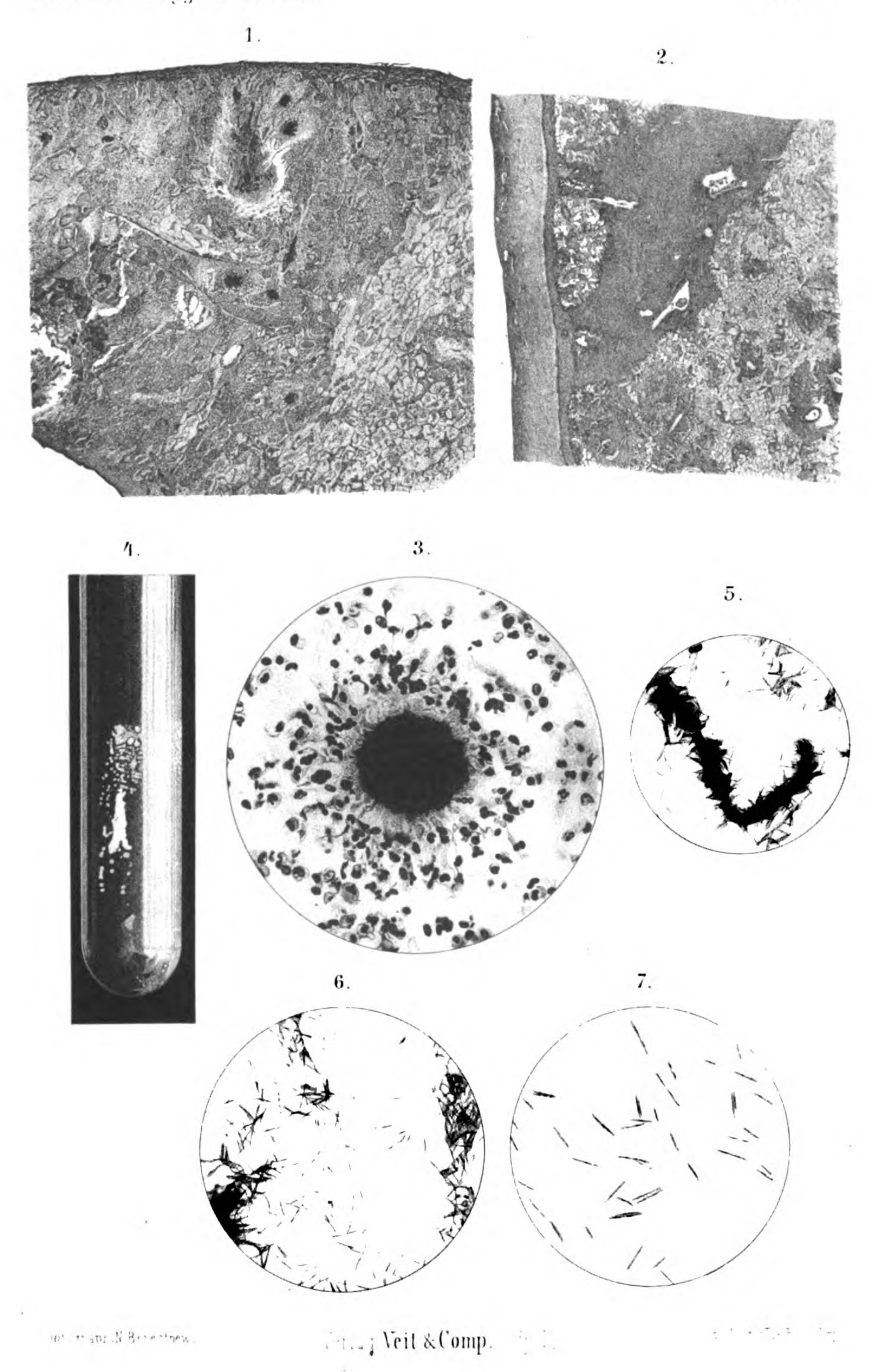




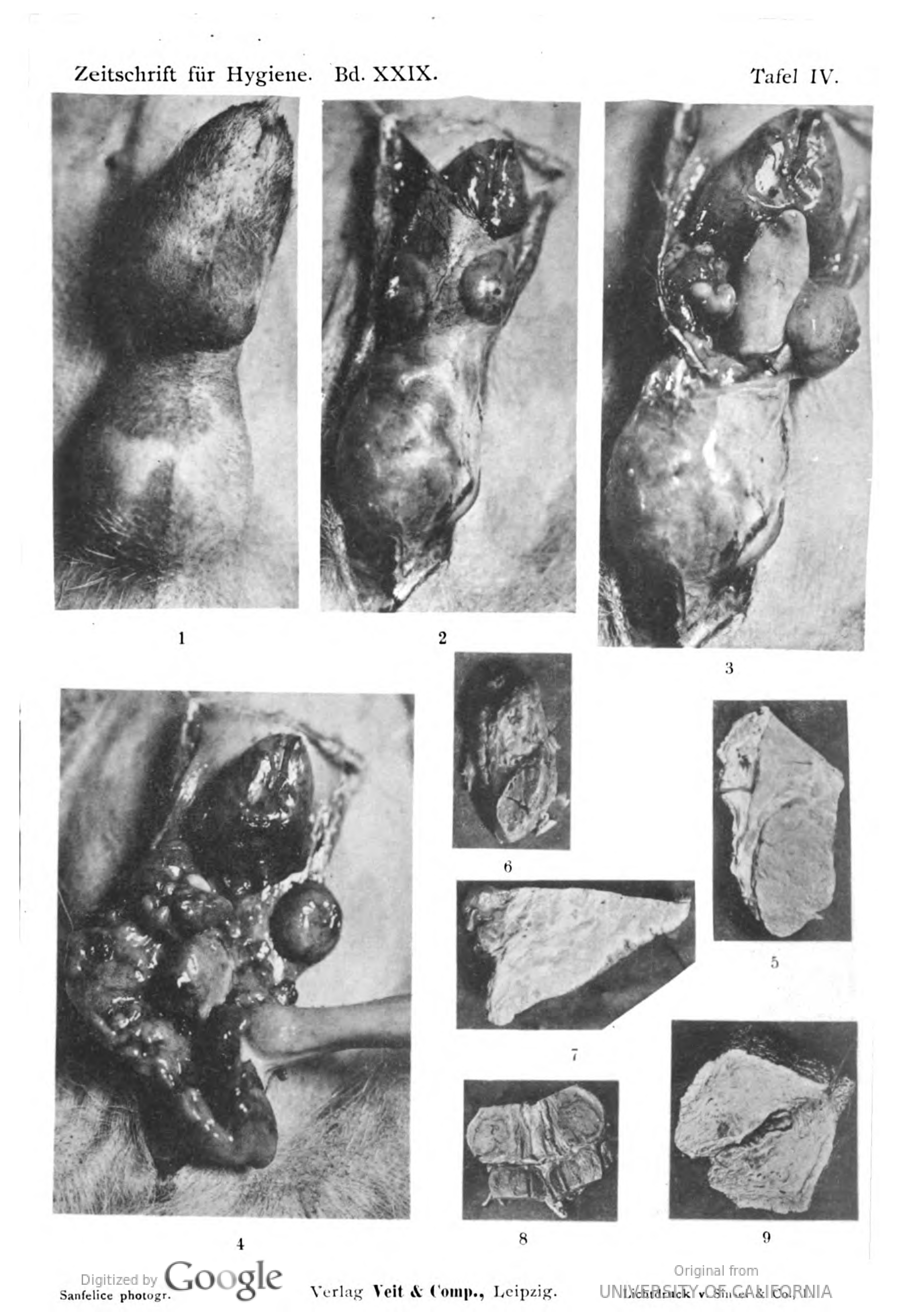
Veit & Comp.



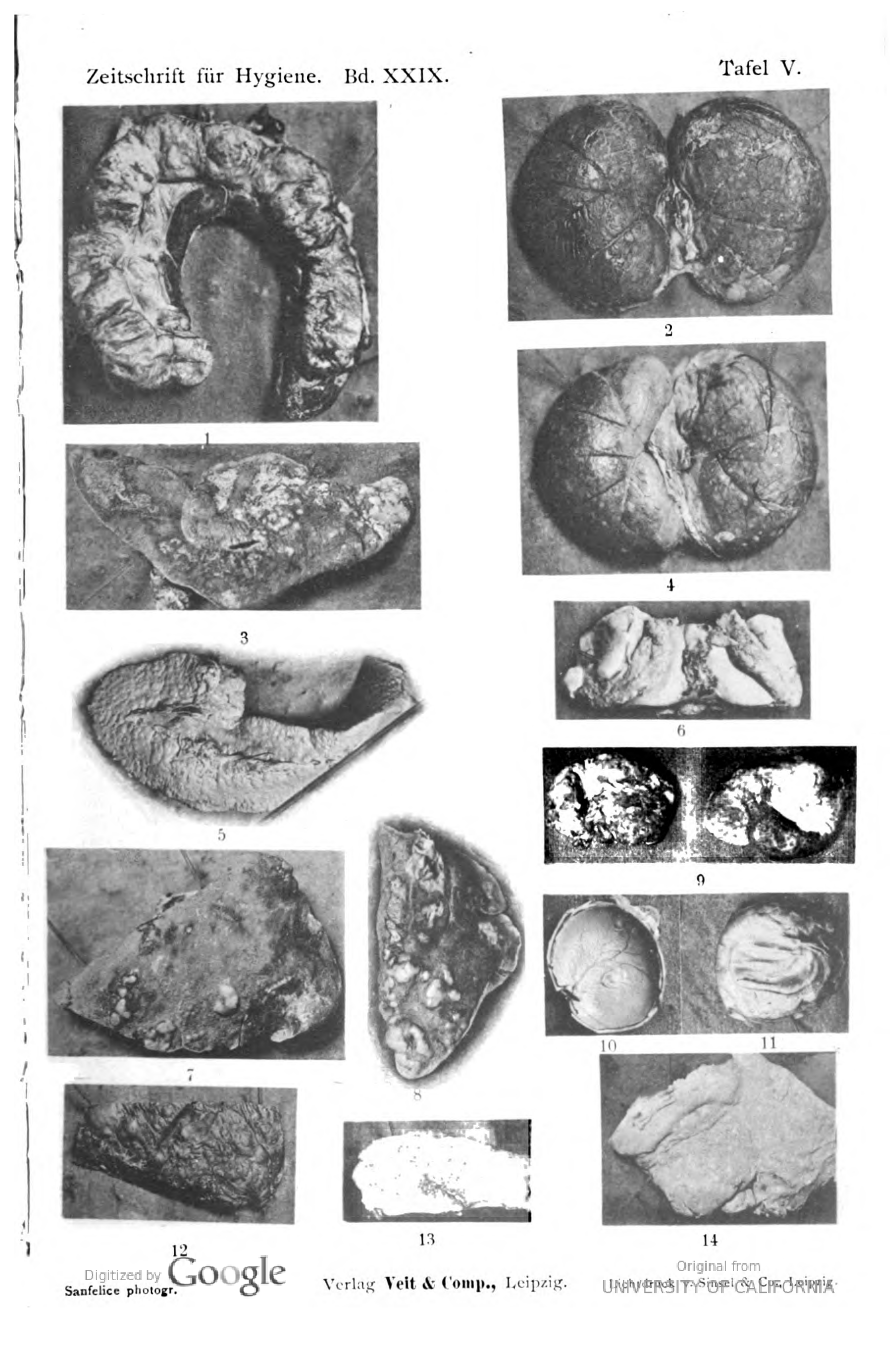
Veit & Comp.



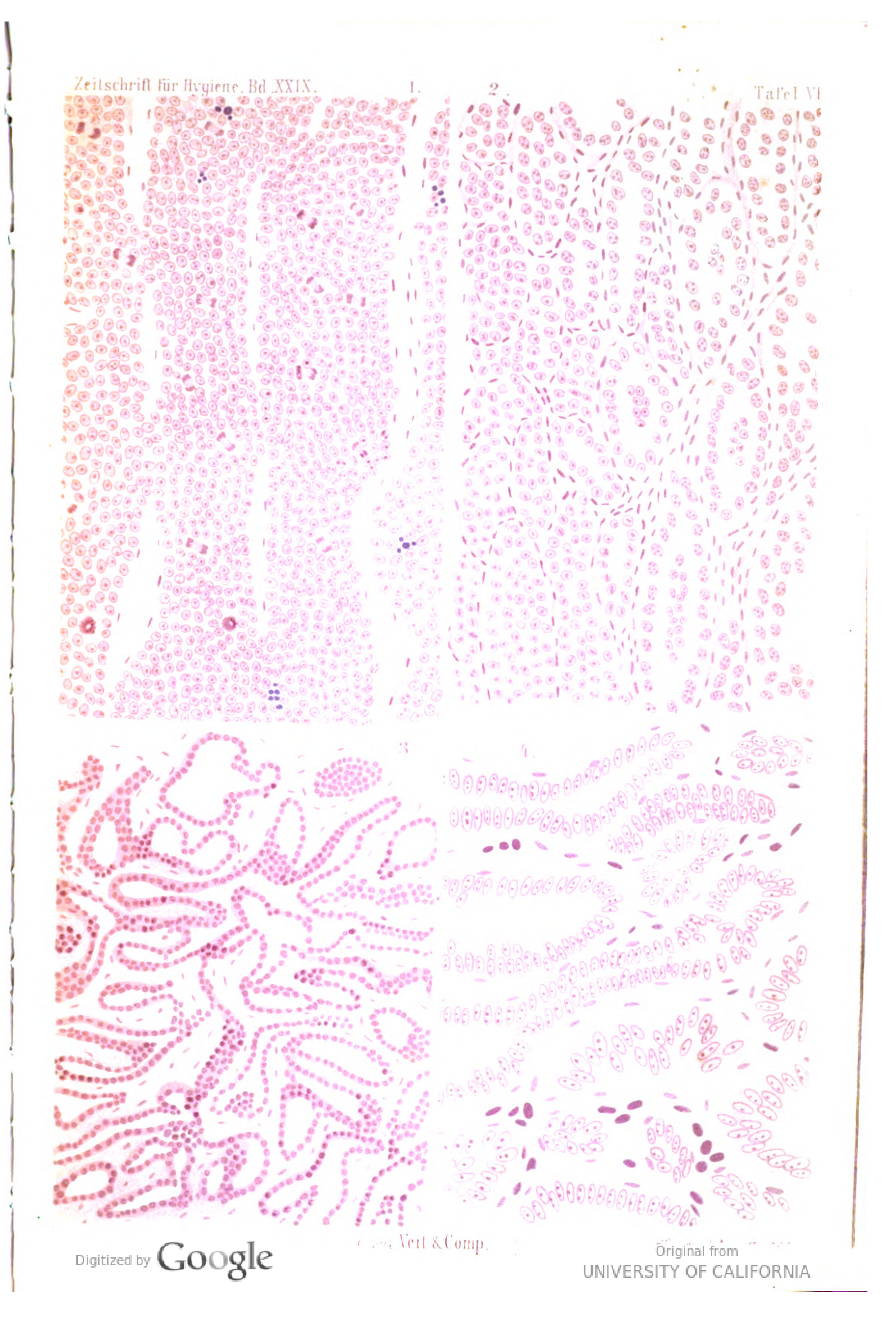
Veit & Comp.



Sanfelice photogr. Verlag Veit & Comp., Leipzig. Lichtdruck v. Sinsel & Co., L.

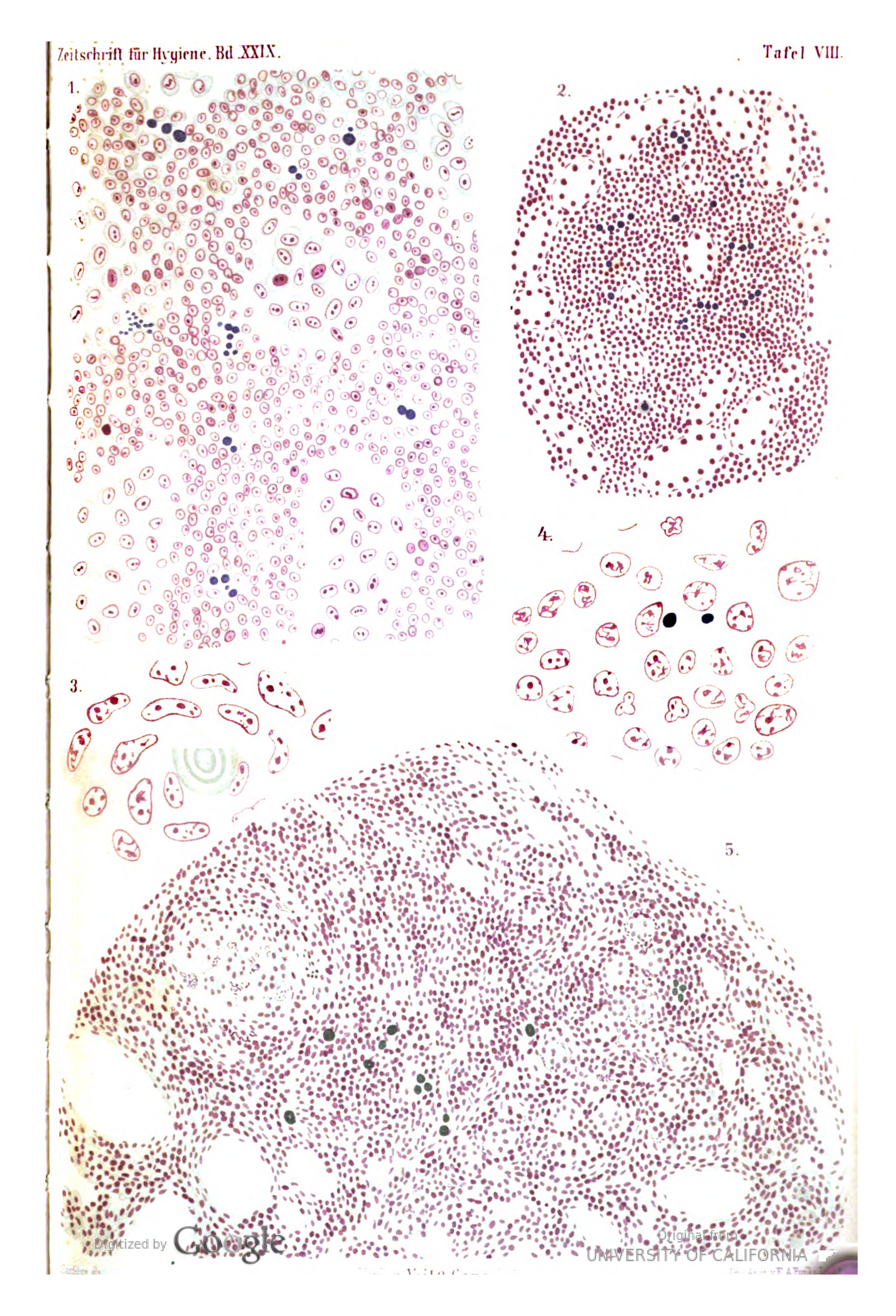


Sanfelice photogr. Verlag **Veit & Comp.,** Leipzig. Lichtdruck v. Sinsel & Co., Leipzig.


Zeitschrift für Hygiene, Bd. XXIX.
1.
2.
Tafel VI
3.
4.
Veit & Comp.



Veit & Comp


1.
2.
3.
4.
5.